

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ УКРАЇНИ
“КИЇВСЬКИЙ ПОЛІТЕХНІЧНИЙ ІНСТИТУТ ІМЕНІ ІГОРЯ СІКОРСЬКОГО”
НАЦІОНАЛЬНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ УКРАЇНИ
“КИЇВСЬКИЙ ПОЛІТЕХНІЧНИЙ ІНСТИТУТ ІМЕНІ ІГОРЯ СІКОРСЬКОГО”

Кваліфікаційна наукова
праця на правах рукопису

КАРПЕНКО ЮРІЙ ВОЛОДИМИРОВИЧ

УДК: 66.086.4; 663.038; 57.088.5

ДИСЕРТАЦІЯ
БІОТЕХНОЛОГІЯ МАГНІТОМІЧЕННЯ ДРІЖДЖІВ *SACCHAROMYCES*
***CEREVISIAE* ЯК БІОСОРБЕНТУ КАТІОНІВ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ**

03.00.20 – біотехнологія

технічні науки

Подається на здобуття наукового ступеня кандидата технічних наук

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело
_____ Ю.В. Карпенко

Науковий керівник: Горобець Світлана Василівна, доктор технічних наук,
професор

Київ – 2017

АНОТАЦІЯ

Карпенко Ю.В. Біотехнологія магнітомічення дріжджів *Saccharomyces cerevisiae* як біосорбенту катіонів важких металів. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата технічних наук за спеціальністю 03.00.20 – біотехнологія. – Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського» МОН України – Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського» МОН України, Київ, 2017.

Дисертацію присвячено науково-технічним основам біотехнології виготовлення магнітоміченого біосорбенту методом багатовихрового магнітогідродинамічного (МГД) перемішування для очистки стічних вод від катіонів важких металів.

Проведено критичний аналіз стану проблеми за даними наукової літератури та патентного пошуку. Розглянуто відомі біосорбенти катіонів важких металів, моделі процесу біосорбції, механізми процесу біосорбції, структуру і електрокінетичний потенціал клітин, процес магнітомічення, зокрема дослідження методу багатовихрового МГД перемішування, а також методи видалення відпрацьованого біосорбенту. Основними проблемами процесу біосорбції важких металів є створення ефективного біосорбенту і обґрунтування механізму сорбції катіонів важких металів цим біосорбентом, а також видалення відпрацьованого сорбенту з очищеної рідини. Біосорбція дріжджами *S. cerevisiae* таких металів як Cu, Cr, Cd, Pb, Fe, Co і Hg досліджена в залежності від варіації різних параметрів процесу. Відзначено, що максимальна сорбційна ємність *S. cerevisiae* залежить від електрокінетичного потенціалу і модифікації клітинної стінки дріжджів, рН середовища, наявності інших компонентів в сорбційній системі.

Показано вплив на процес біосорбції катіонів Cu^{2+} магнітоміченими дріжджами, виготовленими за допомогою багатовихрового МГД перемішування, параметрів магнітомічення: рН середовища, напруженості зовнішнього

магнітного поля, і параметрів сорбційної системи: концентрації біосорбенту, початкової концентрації катіонів металу.

Досліджено електрофоретичну рухливість нативних і термічно-оброблених дріжджів, магнітомічених *S. cerevisiae* методами багатовихрового МГД перемішування або механічного перемішування. Розподіл електрокінетичного потенціалу біомаси магнітомічених *S. cerevisiae* методом багатовихрового МГД перемішування має декілька пікових значень, що свідчить про різну кількість прикріпленого магнетиту і відповідно дає можливість фракціонувати біомасу по магнітній сприйнятливості.

Визначено раціональні параметри процесу магнітомічення методом багатовихрового МГД перемішування суспензії дріжджів і наноманетиту з урахуванням характеристик біосорбції катіонів Cu^{2+} . Параметри багатовихрового МГД перемішування для виготовлення магнітоміченого біосорбенту: рН 2,5 і напруженість постійного магнітного поля – 240 кА/м. Параметри процесу виготовлення магнітоміченого біосорбенту: співвідношення маси нанорозмірного магнетиту до маси дріжджів *S. cerevisiae* – 1%, тривалість багатовихрового МГД перемішування – 2 хв. Ступінь вилучення магнітоміченим біосорбентом складає: 94% катіонів Cu^{2+} при початковій концентрації катіонів Cu^{2+} 50 мг/дм³ і 90% катіонів Fe^{2+} від концентрації катіонів Fe^{2+} 1 мг/дм³.

Доведено, що максимальна сорбційна ємність магнітоміченого біосорбенту складає 25,5 мг/г по катіонах Cu^{2+} і 250 мг/г по катіонах Fe^{2+} у разі наступних параметрів магнітомічення: відношення магнітних міток до маси дріжджів – 1%, тривалість багатовихрового МГД перемішування 2 хв. Встановлено, що ізотерми сорбції катіонів Cu^{2+} нативними дріжджами і магнітоміченим біосорбентом з 1% по масі магнетиту, виготовленим за допомогою багатовихрового МГД перемішування, подібні, а максимальна сорбційна ємність цих біосорбентів відрізняється у межах похибки.

Встановлено характеристики процесу біосорбції магнітоміченим біосорбентом на прикладі катіонів Cu^{2+} – визначені константи моделі Ленгмюра, константи кінетики сорбції в залежності від параметрів магнітомічення

біосорбенту. Встановлено, що максимальна сорбційна ємність по відношенню до катіонів Cu^{2+} зменшується від 25,5 мг/г до 21,1 мг/г абсолютно сухої речовини (АСР) сорбенту у разі відповідного збільшення тривалості магнітомічення від 2 хв до 10 хв багатовихрового МГД перемішування *S. cerevisiae* і нанорозмірного магнетиту Fe_3O_4 .

Визначено залежність магнітної сприйнятливості магнітоміченої суспензії від кількості прикріплених магнітних міток. Питома магнітна сприйнятливість суспензій магнітомічених *S. cerevisiae* знаходиться в діапазоні $(55-70) \cdot 10^{-4}$ у разі прикріплення магнітних міток у кількості 1-10% від маси дріжджів відповідно. Питома магнітна сприйнятливість магнітоміченого біосорбенту з 1% магнетиту по масі виготовленого за 2 хв складає $(57,5-58,5) \cdot 10^{-4}$, а виготовленого за 10 хв – $(55,5-56,5) \cdot 10^{-4}$. Видалення відпрацьованого магнітоміченого біосорбенту на магнітному сепараторі з сталеву сіткою у якості феромагнітної насадки відбувається з ефективністю на рівні не менше 96%.

Вдосконалено технологію магнітомічення дріжджів *S. cerevisiae* шляхом використання багатовихрового МГД перемішування і фракціонування біомаси по магнітній сприйнятливості. Досліджено процес видалення магнітоміченим біосорбентом заліза загального з зразків стічних вод м. Славутич.

В дисертації вперше отримані такі наукові результати:

- визначено залежність сорбційної ємності магнітомічених клітин *S. cerevisiae* методом багатовихрового МГД перемішування по катіонах Cu^{2+} від кількості прикріплених нанорозмірних магнітних міток в діапазоні 1-10% від маси дріжджів;

- встановлено, що метод багатовихрового МГД перемішування дозволяє отримати суспензію магнітомічених *S. cerevisiae* (питома маса магнетиту 1%) з більшою на 3,7% СЄ по катіонах Cu^{2+} , що досягається за рахунок збільшення величини електрокінетичного потенціалу біосорбенту ($-30,6 \pm 4,4$ мВ), порівняно з методом механічного перемішування для осадження колоїдного магнетиту на поверхні клітин ($-10,3 \pm 6,1$ мВ);

- встановлено, що модифікація клітинної стінки дріжджів *S. cerevisiae* прикріпленням магнітних нанорозмірних міток Fe_3O_4 методом багатовихрового МГД перемішування (18 хв^{-1}) призводить до збільшення максимальної сорбційної ємності магнітоміченого біосорбенту по катіонах Fe^{2+} (на 13,6%) порівняно з методом механічного перемішування (180 хв^{-1}).

Розроблений метод магнітомічення за допомогою багатовихрового МГД перемішування є перспективним для виготовлення біосорбентів, на основі інших мікроорганізмів (бактерій, грибів, водоростей). Отримана біотехнологія магнітомічення є основою для розробки нових і вдосконалення існуючих технологій видалення катіонів важких металів зі стічних вод з наступною магнітною сепарацією відпрацьованого біосорбенту. Основною перевагою магнітомічених дріжджів з 1% по масі магнетиту є те, що їх сорбційна ємність дорівнює сорбційній ємності нативних *S. cerevisiae*, а магнітомічений біосорбент може бути видалений з робочого середовища ефективно завдяки магнітній сепарації.

Наукові результати, що викладено в дисертаційній роботі отримано особисто здобувачем на основі проведених експериментальних і теоретичних досліджень, а саме: аналізу наукових публікацій в періодичних виданнях і монографіях, проведення експериментів з дослідження процесу виготовлення і характеристик біосорбенту, аналізу результатів досліджень електрокінетичного потенціалу, дослідження і аналізу експериментальних даних процесу біосорбції катіонів важких металів, аналізу результатів дослідження магнітної сприйнятливості суспензій.

За результатами досліджень опубліковано 20 наукових праць, у тому числі 5 статей у наукових фахових виданнях (з них 4 статті у виданнях України, які включені до міжнародних наукометричних баз), 2 статті у інших наукових виданнях, 1 патент України на корисну модель, 12 тез доповідей в збірниках матеріалів конференцій.

Ключові слова: магнітогідродинамічне перемішування, магнітомічений біосорбент, біосорбція, електрокінетичний потенціал, магнітна сприйнятливість

SUMMARY

Karpenko Yu. V. Biotechnology of attaching of magnetic particles to yeast *Saccharomyces cerevisiae* as a biosorbent of cations of heavy metals. – Qualifying scientific work on the rights of manuscript.

Dissertation to obtain the scientific degree of the candidate of technical sciences in the specialty 03.00.20 – biotechnology. – National Technical University of Ukraine "Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute, Kyiv, 2017.

The dissertation is devoted to the scientific and technical bases of the production biotechnology of magnetically labeled biosorbents by the method of multi-vortical magnetohydrodynamic (MHD) mixing for the purification of wastewater from heavy metal cations.

The critical analysis of the state of the problem is carried out according to the data of scientific literature and patent search. The known biosorbents of cations of heavy metals, models of biosorption process, mechanisms of biosorption process, structure and electrokinetic potential of cells, process of attachment of magnetic particles, were considered, in particular studies of method of multi-vortical MHD mixing, and also extration methods of spent biosorbent. The main problems of the process of biosorption of heavy metals are the creation of an effective biosorbent and the substantiation of the mechanism of sorption of heavy metal cations by this biosorbent, as well as the removal of the spent sorbent from the purified liquid. The biosorption of metals such as Cu, Cr, Cd, Pb, Fe, Co and Hg by yeast *S. cerevisiae* has been studied quite widely. It is noted that the maximum sorption capacity depends on the electrokinetic potential and the modification of the cell wall of yeast, pH of the medium, the presence of other components in the sorption system.

The influence of parameters of attachment of magnetic particles: pH medium, external magnetic field strength and the influence of sorption system parameters: concentration of biosorbent, initial concentration of metal cations on the sorption of copper cations by magnetically labeled yeast obtained by using multi-vortical MHD mixing is shown.

Electrophoretic mobility of native or thermally processed yeast, magnetically labeled *S. cerevisiae* by multi-vortical MHD mixing or by mechanical mixing was investigated. The distribution of the electrokinetic potential of the biomass of magnetically labeled *S. cerevisiae* by the method of multi-vortical MHD mixing has several peak values, indicating a different amount of attached magnetite and, accordingly, allows fractionation of biomass by magnetic susceptibility.

The rational parameters of the attachment process by the method of multi-vortical MHD mixing of suspensions of yeast and nanosize magnetite considering the characteristics of biosorption of copper cations Cu^{2+} are determined. Parameters of multi-vortical MHD mixing for the production of the magnetically labeled biosorbent are: pH 2,5 and the strength of permanent magnetic field – 240 kA/m. Parameters of the production of a magnetically labeled biosorbent: the mass ratio of the nanosize magnetite to the yeast *S. cerevisiae* – 1%, the duration of multi-vortical MHD mixing – 2 min. The degree of removal by magnetically labeled biosorbent is: 94% of copper cations Cu^{2+} at an initial concentration of copper 50 mg/dm³ and 90% of iron cations Fe^{2+} at an initial concentration of iron 1 mg/dm³.

It is proved that the maximum sorption capacity of the magnetically labeled biosorbent is 25,5 mg/g towards copper cations and 250 mg/g towards iron cations in the case of next parameters of attachment of magnetic particles: the mass ratio of magnetic particles to the yeast – 1%, the duration of multi-vortical MHD mixing is 2 min. It is proved that the isotherms of sorption of copper cations by native yeast and by magnetically labeled biosorbent with 1% by weight of magnetite, manufactured by mixing at a pH of 2,5 and at an external magnetic field 240 kA/m with a duration of 2 min, are similar, and their maximum sorption capacities differs within an error.

The characteristics of the process of biosorption by the magnetically labeled biosorbent on the example of copper cations of Cu^{2+} were determined – the constants of the Langmuir model and the constants of the sorption kinetics, depending on the parameters of the process of magnetically labeling of the biosorbent, were determined. It was established that the maximum sorption capacity towards copper cations decreases from 25,5 mg/g to 21,1 mg/g of dry weight of sorbent in case of corresponding increase

of the attachment duration from 2 to 10 min of multi-vortical MHD mixing of *S. cerevisiae* and nanosize magnetite Fe_3O_4 .

The dependence of the magnetic susceptibility of the magnetically labeled suspension on the number of attached magnetic particles is determined. The magnetic susceptibility of a magnetically labeled biosorbent suspensions lies in the range $(55-70) \cdot 10^{-4}$ in case of attachment magnetic particles 1-10% by weight of biomass, accordingly. The specific magnetic susceptibility of a magnetically labeled biosorbent with mass of magnetite 1 % and produced in 2 min is $(57,5-58,5) \cdot 10^{-4}$, and same produced in 10 min is $(55,5-56,5) \cdot 10^{-4}$. Removal of the spent magnetically labeled biosorbent on a magnetic separator with a two-layer steel mesh as a ferromagnetic nozzle occurs with an efficiency of at least 96%.

The technology of attachment of magnetite to yeast *S. cerevisiae* has been improved by using multi-vortical MHD mixing and fractionation of biomass by magnetic susceptibility. The process of removing of iron by magnetically labeled biosorbent from the waste water of the city Slavutych is studied.

The following scientific results were obtained for the first time in the dissertation:

- the dependence of the sorption capacity towards Cu^{2+} cations of the magnetically labeled *S. cerevisiae* cells obtained by the multi-vortical MHD mixing from the quantity of attached nanosize magnetic particles in the range of 1-10% by weight of yeast was determined;

- the method of multi-vortical MHD mixing allows to obtain a suspension of magnetically labeled *S. cerevisiae* (specific weight of magnetite 1%) with a greater sorption capacity towards cations of Cu^{2+} by 3,7%, that is achieved by increasing the electrokinetic potential of the biosorbent $(-30,6 \pm 4,4 \text{ mV})$, comparing with the mechanical mixing for depositing colloidal magnetite on the cell surface $(-10,3 \pm 6,1 \text{ mV})$;

- modification of the cell wall of yeast of *S. cerevisiae* by attachment of magnetic nanosize particles of Fe_3O_4 by the multi-vortical MHD mixing (18 min^{-1}) leads to an increase of the maximum sorption capacity of the magnetized biosorbent towards Fe^{2+} cations (by 13,6%) comparing to the mechanical mixing (180 min^{-1}).

The developed method of magnetite attachment by means of multi-vortical MHD mixing is promising for the production of biosorbents, based on other microorganisms (bacteria, fungi, algae). The obtained biotechnology of magnetite attachment is the basis for developing new and improving existing technologies of the removal of heavy metal cations from wastewater with the subsequent magnetic separation of the spent biosorbent. The main advantage of magnetically labeled yeasts with 1% by weight of magnetite is that their sorption capacity is equal to the sorption capacity of the native *S. cerevisiae*, and the magnetically modified biosorbent can be effectively removed from the working medium through the magnetic separation.

The scientific results presented in the dissertation are obtained personally by the author on the basis of experimental and theoretical research, namely: analysis of scientific publications in periodicals and monographs, carrying out experiments on the study of the manufacturing process and characteristics of the biosorbent, analysis of the results of studies of electrokinetic potential, research and analysis of experimental data of the heavy metal cations biosorption, analysis of the results of the magnetic susceptibility.

According to the results of the research, 20 scientific papers, including 5 articles in scientific professional journals (including 4 articles in Ukrainian editions, which are included in international scientometrics databases), 2 articles in other scientific journals, 1 patent of Ukraine, 12 theses reports on conferences have been published.

Key words: magnetohydrodynamic mixing, magnetically labeled biosorbent, biosorption, electrokinetic potential, magnetic susceptibility

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

Публікації, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Горобець С. В. Інтенсифікація сорбційної здатності дріжджів *S. cerevisiae* за допомогою багатовихрового магнітогідродинамічного перемішування / С.В. Горобець, Ю.В. Карпенко // Електроніка та зв'язок. –

2009. – Т.1. – №49–50 (2–3). – С. 191–195. (Науковий журнал, який включено до переліку наукових фахових видань України).

2. Горобець С.В. Використання магнітомічених дріжджів *S. cerevisiae* для вилучення іонів міді / С.В. Горобець, Ю.В. Карпенко, Л.В. Маринченко // Вісник Донецького національного університету – Серія А. Природничі науки. – 2010. – №1. – С. 230–236.

3. Karpenko Y.V. Electrophoretic mobility magnetically labeled yeast cells *S. cerevisiae* / Y.V. Karpenko, S.V. Gorobets // *Functional Materials*. – 2012. – Vol.19 – N.3. – P. 362–369. (Науковий журнал, який включено до переліку наукових фахових видань України; індексується в наукометричних базах SCOPUS, Chemical Abstract Service, DOAJ, Джерело).

4. Горобець С.В. Визначення оптимальних характеристик магнітоміченого біосорбенту на основі дріжджів *Saccharomyces Cerevisiae* / С.В. Горобець, Н.О. Михайленко, Ю.В. Карпенко // Хімія, фізика та технологія поверхні. – 2013. – Т.4. – №2. – С. 219–225.

5. Горобець С.В. Застосування магнітомічених клітин *S. cerevisiae* як біосорбенту на очисних спорудах / С.В. Горобець, Ю.В. Карпенко, О.В. Ковальов, В.В. Олішевський // Наукові вісті НТУУ «КПІ». – 2013. – №.3. – С. 42–47. (Науковий журнал, який включено до переліку наукових фахових видань України; індексується в наукометричних базах EBSCO, Index Copernicus, WorldCat, Google Scholar, Ulrich's Periodicals Directory, BASE, ResearchBib, РІНЦ).

6. Gorobets S. The development of a magnetically operated biosorbent based on the yeast *saccharomyces cerevisiae* for removing copper cations Cu^{2+} / S. Gorobets, Y. Karpenko // *Eastern-European Journal of Enterprise Technologies*. – 2017. – Vol.1. – N.6 (85). – P. 28–34. (Науковий журнал, який включено до переліку наукових фахових видань України; індексується в наукометричних базах РІНЦ, Scopus, EBSCO, DOAJ, index Copernicus, WorldCat, BASE).

7. Karpenko Y. Study of modification of magnetically labeled yeasts *Saccharomyces cerevisiae* for copper cations Cu^{2+} removal / Y. Karpenko // *Technology audit and production reserves*. – 2017. – Vol. 1. – №.3 (33). – P. 45–49. (Науковий

журнал, який включено до переліку наукових фахових видань України; індексується в наукометричних базах BASE, Index Copernicus, WorldCat, EBSCO).

Публікації, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

8. Патент України на корисну модель № 42448 UA, МПК (2006.01) C02F 1/42. Спосіб отримання магнітного біосорбенту / Горобець С.В. (UA), Двойненко О.К. (UA), Карпенко Ю.В. (UA), Заявка u200815002, 25.12.2008. Опубл. бюл. №13, 10.07.2009р.

9. Горобець С.В. Интенсификация сорбционной способности дрожжей *S. cerevisiae* с помощью многовихревого МГДП / С.В. Горобець, Ю.В. Карпенко // Матеріали IV міжнародної науково-практичної конференції «Біотехнологія. Наука. Освіта. Практика.» (11-13 листопада 2008р.) – м.Дніпропетровськ, 2008. – С.74.

10. Gorobets S.V. Mechanism of receipt of the magnetically operated biosorbent by multi-vortical magnetohydrodynamic mixing / S.V. Gorobets, Y.V. Karpenko // OMEE –2009 (22-26 June 2009) – Lviv, Ukraine. – p.167.

11. Горобець С.В. Порівняння сорбційної здатності живих та висушених дріжджів *S. Cerevisiae* для очищення стічних вод при механічному перемішуванні / С.В. Горобець, М.М. Колесник, Ю.В. Карпенко, І.В. Дем'яненко // Матеріали V міжнародної наукової конференції студентів та аспірантів «Молодь і поступ біології» (12-15 травня 2009 р.) – м.Львів, 2009. – С.51–52.

12. Gorobets O.Y. Biosorption of copper (II) by magnetically labeled cells *Saccharomyces Cerevisiae* / O.Y. Gorobets, Y.V. Karpenko // Матеріали міжнародної наукової конференції «International workshop magnetic phenomena in Micro- and Nano-structures» (27-29 травня 2010р.) – Donetsk, 2010. – С.92.

13. Горобець С.В. Дослідження електрофоретичної рухливості клітин дріжджів *S. cerevisiae* / С.В. Горобець, Ю.В. Карпенко // Матеріали V регіональної науково-практичної конференції «Біотехнологія XXI століття» (26 квітня 2011р.) – м.Київ, 2011. – С.71.

14. Gorobets S.V. Research of electrophoretic mobility magnetically labeled based on the yeast *S. cerevisiae* biosorbents of copper ions / S.V. Gorobets, Y.V.

Karpenko // Матеріали міжнародної конференції International Conference “Functional Materials” (3–8 жовтня 2011) – Partenit, Crimea, Ukraine, 2011. – С.390.

15. Горобець С.В. Практичне застосування магнітомічених клітин *S. cerevisiae* в якості біосорбенту / С.В. Горобець, Ю.В. Карпенко, О.В. Ковальов // Матеріали VI Всеукраїнської науково-практичної конференції «Біотехнологія XXI століття» (5 квітня 2012р.) – м.Київ, 2012. – С.145.

16. Горобець С.В. Визначення оптимальних характеристик магнітокерованого біосорбенту на основі дріжджів *SacharomycesCerevisiae* / С.В. Горобець, Н.О. Михайленко, Ю.В. Карпенко, О.В.Осадча // Матеріали VI Всеукраїнської науково-практичної конференції «Біотехнологія XXI століття» (5 квітня 2012р.) – м.Київ, 2012. – С.146.

17. Горобець С.В. Дослідження сорбції іонів заліза магнітоміченим біосорбентом / С.В. Горобець, Т.З. Нгуен, Ю.В. Карпенко // Матеріали VI Всеукраїнської науково-практичної конференції «Біотехнологія XXI століття» (5 квітня 2012р.) – м.Київ, 2012. – С.147.

18. Карпенко Ю.В. Зміна заряду поверхні магнітомічених клітин дріжджів *S. cerevisiae* у разі збільшення концентрації наномагнетиту / Ю.В. Карпенко // Матеріали Всеукраїнської з міжнародною участю конференції молодих вчених «Хімія, фізика та технологія поверхні» (15–16 травня 2012 р.) – м.Київ, 2012. – С.12.

19. Горобець С.В. Взаємозв'язок електрофоретичної рухливості магнітоміченого біосорбенту і його сорбційної ємності / С.В. Горобець, Ю.В. Карпенко // Матеріали Міжнародної науково-практичної конференції «Технології очищення води. Технічні, біологічні та екологічні аспекти» (3-5 грудня 2013 р.) – м. Київ, 2013. – С.69.

20. Карпенко Ю.В. Моделювання взаємозв'язку максимальної сорбційної ємності по відношенню до катіонів міді і електрокінетичного потенціалу магнітомічених дріжджів / Ю.В. Карпенко // Матеріали XI Всеукраїнської науково-практичної конференції «Біотехнологія XXI століття» (21 квітня 2017) – м. Київ, 2017. – С.99.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ І СКОРОЧЕНЬ.....	14
ВСТУП.....	15
РОЗДІЛ 1. СТАН ПРОБЛЕМИ ВИЛУЧЕННЯ КАТІОНІВ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ МАГНІТОМІЧЕНИМИ БІОСОРБЕНТАМИ ЗІ СТІЧНИХ ВОД.....	24
1.1 Біосорбція катіонів важких металів	26
1.1.1 Моделювання процесу біосорбції	27
1.1.2 Біосорбенти важких металів	31
1.2 Магнітомічені дріжджі <i>S. cerevisiae</i> як біосорбент важких металів.....	34
1.2.1 Структура клітинної стінки дріжджів <i>S. cerevisiae</i>	36
1.2.2 Електрокінетичний потенціал клітин дріжджів <i>S. cerevisiae</i>	39
1.2.3 Характеристики процесів сорбції різних важких металів дріжджами <i>S. cerevisiae</i>	42
1.3 Технологічні аспекти магнітомічення біосорбентів.....	44
1.4 Багатовихрове магнітогідродинамічне перемішування	46
1.5 Методи видалення відпрацьованого біосорбенту.....	50
Висновки до розділу 1	51
РОЗДІЛ 2. МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ, МАТЕРІАЛИ І УСТАНОВКИ.....	52
2.1 Матеріали.....	53
2.2 Методика прикріплення магнітних міток до клітин дріжджів.....	54
2.2.1 Метод магнітомічення біомаси дріжджів <i>S. cerevisiae</i>	54
2.2.2 Експериментальна установка магнітомічення клітин дріжджів	55
2.3 Метод визначення електрофоретичної рухливості клітин <i>S. cerevisiae</i>	57
2.4 Установка і метод визначення електрокінетичного потенціалу дріжджів	60
2.5 Метод дослідження сорбційної здатності магнітомічених біосорбентів	60
2.5.1 Метод дослідження кінетики сорбції катіонів важких металів магнітоміченим біосорбентом	61
2.5.2 Метод побудови ізотерм сорбції	62
2.5.3 Метод визначення концентрації катіонів Cu^{2+} у розчині	64

	14
2.5.4 Метод визначення концентрації катіонів Fe^{2+} у розчині	65
2.6 Метод визначення магнітної сприйнятливості	66
2.7 Атомно-силова і магнітна силова мікроскопія магнітомічених комплексів..	69
2.8 Методи дослідження клітинної стінки у процесі біосорбції	70
2.8.1 Метод екстракції білків і ліпідів з клітинної стінки	71
2.8.2 Блокування сорбції функціональними групами клітинної стінки.....	72
2.9 Математичні методи обробки експериментальних даних	73
Висновки до розділу 2	77
РОЗДІЛ 3. ЕЛЕКТРОКІНЕТИЧНИЙ ПОТЕНЦІАЛ МАГНІТОМІЧЕНОГО	
БІОСОРБЕНТУ	78
3.1 Удосконалений метод багатовихрового МГД перемішування для	
виготовлення магнітоміченого біосорбенту.....	78
3.2 Електрофоретична рухливість магнітомічених дріжджів <i>S. cerevisiae</i>	82
3.3 Електрокінетичний потенціал магнітоміченого біосорбенту.....	87
3.3.1 Співставлення сорбції катіонів металів і електрокінетичного	
потенціалу.....	89
3.4. Моделювання взаємозв'язку сорбційної ємності за катіонами міді	
і дзета потенціалом біосорбенту.....	91
Висновки до розділу 3	96
РОЗДІЛ 4. ОПТИМІЗАЦІЯ ПРОЦЕСУ ВИГОТОВЛЕННЯ МАГНІТОМІЧЕНОГО	
БІОСОРБЕНТУ ТА ЗАКОНОМІРНОСТІ СОРБЦІЇ НИМ КАТІОНІВ Cu^{2+}	97
4.1 Дослідження впливу параметрів процесу прикріплення наномігнетиту на	
сорбційні характеристики дріжджів.....	97
4.2 Аналіз внеску функціональних груп на процеси прикріплення і	
сорбції катіонів важких металів магнітоміченим біосорбентом.....	101
4.3 Оптимізація параметрів процесу виготовлення магнітоміченого	
біосорбенту.....	103
4.4 Дослідження магнітної сприйнятливості магнітомічених біосорбентів	106
Висновки до розділу 4	108

РОЗДІЛ 5. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНІ ПОКАЗНИКИ ТЕХНОЛОГІЇ

МАГНІТОМІЧЕННЯ БІОСОРБЕНТУ	109
5.1 Обґрунтування технології	109
5.2 Технологічна схема магнітомічення біосорбенту.....	115
5.3 Характеристика магнітоміченого біосорбенту	121
5.4 Матеріальний баланс і техніко-економічні показники	124
Висновки до розділу 5	128
ВИСНОВКИ.....	129
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	130
ДОДАТКИ.....	143
ДОДАТОК А.....	144
ДОДАТОК Б	145
ДОДАТОК В.....	146
ДОДАТОК Г	147

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ І СКОРОЧЕНЬ

Перелік умовних позначень:

ξ – електрокінетичний (дзета-) потенціал, В;

μ – електрофоретична рухливість, м²/Вс;

b – константа моделі Ленгмюра, дм³/мг;

C – концентрація розчину, мг/дм³;

E – напруженість електричного поля, В/м;

ΔG – кількість теплоти адсорбції, кДж/моль;

H – напруженість магнітного поля, кА/м;

m – маса, г;

pH – водневий показник;

q – сорбційна ємність, мг/г;

R – ступінь вилучення, %;

t – тривалість вимірювань, с;

T – температура, К;

V – швидкість, м/с.

Перелік скорочень:

АСР – абсолютно суха речовина

АСМ – атомно-силова мікроскопія

ВГМС – високоградієнтна магнітна сепарація

ВМ – важкий метал

ГДК – гранично допустима концентрація

ЕР – електрофоретична рухливість

КС – клітинна стінка

МГД – магнітогідродинамічний

МСМ – магнітна силова мікроскопія

ППР – позаклітинні полімерні речовини

СВ – стічна вода

СЄ – сорбційна ємність.

ВСТУП

Актуальність теми. Велика кількість поверхневих джерел водопостачання України забруднюється через низьку якість очищення стічних вод (СВ) хімічних, нафтопереробних і целюлозно-паперових комбінатів, великих тваринницьких комплексів [1]. Наявні біологічні, фізичні і хімічні методи очищення СВ мають ряд суттєвих недоліків, тому постає необхідність в розробленні нових більш досконалих технологій. Зокрема, як перспективна технологія обробки СВ розглядається біосорбція забруднюючих речовин, зокрема важких металів (ВМ), з використанням магнітомічених біосорбентів. Видалення іонів ВМ шляхом біосорбції дріжджами *Saccharomyces cerevisiae* інтенсивно досліджується декілька десятиліть [2, 3]. Їх використання доцільне, оскільки *S. cerevisiae* виробляються в значній кількості в харчовому й пивному виробництвах.

Видалення відпрацьованого біосорбенту є одним з основних питань розробки технології очищення води. Одним з дієвих методів видалення біомаси з потоку є високоградієнтна магнітна сепарація (ВГМС). Нативні дріжджові клітини відносяться до діамагнетиків, тому для надання магнітних властивостей дріжджам використовуються магнітні мікро- [4] та нанорозмірні [3,5] мітки для створення комплексів «магнітні мітки-дріжджова клітина». Окремим випадком надання магнітних властивостей є модифікація процесів акумуляції сполук заліза в *S. cerevisiae* шляхом вирощування генетично-модифікованих штамів на залізозмісному субстраті [6].

Традиційно процес магнітомічення біосорбенту проводять шляхом механічного перемішування суспензії дріжджів і колоїдного або мікророзмірного магнетиту (Fe_3O_4). Добре відомо, що магніточутливі суспензії можна перемішувати за допомогою магнітогідродинамічного (МГД) перемішування [7]. На теперішній час використовуються магнітні мітки, які прикріплюються до клітинної стінки (КС) при механічному перемішуванні. Тому постає питання оптимізації методу МГД перемішування з метою покращення сорбційних властивостей комплексів з магнітними мітками. Створення комплексу «магнітні

мітки-дріжджова клітина» з теоретично розрахованою магнітною сприйнятливістю для фільтрації біомаси з потоку в нових технологіях очищення СВ передбачає фундаментальні дослідження по прикріпленню наночастинок магнетиту до клітини. Таким чином проблема магнітомічення біосорбентів є надзвичайно актуальною.

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційну роботу виконано на кафедрі біоінформатики Національного технічного університету України «Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського» (м. Київ) у відповідності до Державних програм України, що стосуються охорони навколишнього середовища в рамках державних науково-дослідних робіт Міністерства освіти і науки України:

- № 2219ф «Дослідження механізмів вилучення іонів важких металів із стічних вод за допомогою магнітокерованої біосорбції» (2009-2011 рр., номер державної реєстрації 0109U002635; виконавець);

- № 2515ф «Механізми інтенсифікації процесу сорбції іонів важких металів модифікованим магнітокеруваним біосорбентом для очищення стічних вод» (2012-2014 рр., номер державної реєстрації 0112U000957; виконавець);

- № 2866ф «Механізми інтенсифікації процесу сорбції іонів важких металів сухим магнітокеруваним біосорбентом для очищення стічних вод» (2015-2017 рр., номер державної реєстрації 0115U000401; виконавець).

Мета і задачі досліджень. Метою роботи є вдосконалення біотехнології магнітомічення суспензії *S. cerevisiae* колоїдним магнетитом Fe_3O_4 методом багатовихрового МГД перемішування.

Для досягнення поставленої мети необхідно було вирішити такі задачі:

1. отримати оптимізований біосорбент на основі дріжджів *S. cerevisiae* і нанорозмірних магнітних міток Fe_3O_4 методом багатовихрового МГД перемішування;

2. визначити кількісні показники електростатичної взаємодії *S. cerevisiae* з магнітними мітками з метою підвищення ефективності біосорбції ВМ та сепарації відпрацьованої біомаси;

3. встановити найбільшу сорбційну ємність (СЄ) магнітомічених дріжджів *S. cerevisiae* методом багатовихрового МГД перемішування, що досягається за рахунок зменшення тривалості процесу і питомої маси магнетиту;

4. визначити раціональні параметри процесу магнітомічення дріжджів *S. cerevisiae* наночастинками магнетиту методом багатовихрового МГД перемішування для забезпечення ефективної біосорбції катіонів металів;

5. встановити характеристики процесу біосорбції магнітоміченим біосорбентом на прикладі катіонів Cu^{2+} і Fe^{2+} з метою оптимізації СЄ;

6. визначити залежність магнітної сприйнятливості магнітоміченої суспензії від кількості прикріплених магнітних міток для підвищення ефективності видалення біомаси з СВ;

7. розробити технологічну схему процесу магнітомічення біосорбенту для видалення катіонів важких металів.

Об'єкт дослідження. Багатовихрове МГД перемішування електролітів, магнітних рідин і суспензій клітин.

Предмет дослідження. Закономірності магнітомічення біосорбенту на основі *S. cerevisiae*, оптимальні умови процесу біосорбції, електрокінетичний потенціал магнітоміченого біосорбенту, магнітна сприйнятливість магнітоміченого біосорбенту.

Методи дослідження. Для вирішення поставлених задач використано такі методи досліджень: фізичні (гравіметричний метод визначення ваги сухого залишку, аналітичний електрофорез, спектрофотометрія, визначення магнітної сприйнятливості радіотехнічним резонансним методом, скануюча зондова мікроскопія: атомно-силова і магнітно-силова), фізико-хімічні (метод багатовихрового МГД перемішування), хімічні (метилування, естерифікація функціональних груп, екстракція ліпідів і омилення білків КС), математичні (модель моношарової сорбції Ленгмюра, регресійний аналіз, статистична обробка результатів). Графічне відображення результатів експериментів та їх обробку виконано за допомогою пакету програм MS Office (MS Excel) і OriginLab. Кресленики і схеми виконані з використанням пакету програм «Аскон Компас».

Наукова новизна отриманих результатів.

В дисертації вперше отримані такі наукові результати:

Визначено залежність сорбційної ємності магнітомічених клітин *S. cerevisiae* методом багатовихрового МГД перемішування по катіонах Cu^{2+} від кількості прикріплених нанорозмірних магнітних міток в діапазоні 1-10% від маси дріжджів.

Встановлено, що метод багатовихрового МГД перемішування дозволяє отримати суспензію магнітомічених *S. cerevisiae* (питома маса магнетиту 1%) з більшою на 3,7% СЄ по катіонах Cu^{2+} , що досягається за рахунок збільшення величини електрокінетичного потенціалу біосорбенту ($-30,6 \pm 4,4$ мВ), порівняно з методом механічного перемішування для осадження колоїдного магнетиту на поверхні клітин ($-10,3 \pm 6,1$ мВ).

Встановлено, що модифікація клітинної стінки дріжджів *S. cerevisiae* прикріпленням магнітних нанорозмірних міток Fe_3O_4 методом багатовихрового МГД перемішування (18 хв^{-1}) призводить до збільшення максимальної сорбційної ємності магнітоміченого біосорбенту по катіонах Fe^{2+} (на 13,6%) порівняно з методом механічного перемішування (180 хв^{-1}).

Практичне значення отриманих результатів. Розроблений метод магнітомічення за допомогою багатовихрового МГД перемішування є перспективним для виготовлення біосорбентів, на основі інших мікроорганізмів (бактерій, грибів, водоростей). Удосконалена біотехнологія магнітомічення підтверджена патентом України на корисну модель № 42448 UA, МПК (2006.01) C02F 1/42 «Спосіб отримання магнітного біосорбенту».

Отримана біотехнологія магнітомічення є основою для розробки технології видалення катіонів важких металів. Основною перевагою магнітомічених дріжджів з 1 % по масі магнетиту є те, що їх СЄ дорівнює СЄ нативних *S. cerevisiae*, а магнітомічений біосорбент може бути видалений з робочого середовища ефективно завдяки ВГМС.

Методика магнітомічення і біосорбент використовуються лабораторією підприємства ТОВ «НВП ЕКОСПЕЦПРОМ» м. Чернігів, для видалення іонів

заліза, азоту амонійного, що підтверджено актом випробувань (Акт впровадження від 15.05.2017 Додаток А).

Проведені випробування дослідних зразків біосорбенту на СВ комунальних очисних споруд м. Славутич засвідчили забезпечення очистки СВ від загального заліза до концентрацій, менших ніж ГДК (Акт впровадження від 12.05.2017 Додаток Б).

Результати досліджень впроваджені в начальному процесі на кафедрі біоінформатики «КПІ ім. Ігоря Сікорського» у вигляді лабораторних робіт з дисциплін «Основи біомедичного застосування високоградієнтної магнітної сепарації (фільтрації)» і «Біосепарація» для напряму підготовки 6.051401 «Біотехнологія» (Акт впровадження від 25.05.2017 Додаток В).

Особистий внесок здобувача. Аналіз літератури, основний обсяг експериментальної роботи, обробка отриманих даних проведені особисто здобувачем. Постановка задач досліджень, узагальнення результатів та їх трактування, обговорення висновків дисертації проведено спільно з науковим керівником – д.т.н., проф. Горобець С.В. Здобувачем обґрунтовано вибір параметрів прикріплення магнітних міток і біосорбції та обрані методи їх дослідження, проведено експериментальні дослідження з магнітомічення, біосорбції з модельних розчинів катіонів ВМ, та визначення характеристик магнітоміченого біосорбенту, а також обробку результатів експериментів.

Дослідження біосорбції на зразках стоків магнітоміченим біосорбентом проведено спільно з начальником лабораторії хіміко-аналітичного контролю Ковальовим О.В. на базі комунального підприємства «Управління житлово-комунального господарства» м. Славутич. Дослідження феромагнітного резонансу проведено у співпраці з д.ф.-м.н. Голубом В.О. на базі Інституту Магнетизму НАН України та Міністерство освіти і науки України України.

У спільних працях автору належить наступне: [8] – експериментальні дослідження, обробка результатів експериментів, [9] – експериментальні дослідження кінетики сорбції катіонів ВМ, математична обробка результатів експериментів у вигляді моделей Ленгмюра, [10] – експериментальні дослідження електрокінетичного потенціалу біомаси, обробка результатів експериментів,

[11] – експериментальні дані по сорбції катіонів ВМ і магнетиту, математична обробка результатів експериментів, [12] – експериментальні дані сорбції катіонів ВМ з модельних розчинів, визначення параметрів моделі Ленгмюра, [13] – експериментальні дослідження сорбції, 3D кресленики експериментальної установки, математична обробка результатів вимірювань. Роботу [14] автором виконано самостійно і підготовлено текст статті.

Дисертаційна робота виконана на кафедрі біоінформатики Національного технічного університету України «Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського» під керівництвом д.т.н., проф. Горобець С.В.

Наукові результати, що викладено в дисертаційній роботі отримано особисто здобувачем на основі проведених експериментальних і теоретичних досліджень, а саме: аналізу наукових публікацій в періодичних виданнях і монографіях, проведення експериментів з дослідження процесу виготовлення і характеристик біосорбенту, електрокінетичного потенціалу, процесу біосорбції катіонів ВМ, магнітної сприйнятливості суспензій.

Апробація результатів дисертації. Основні результати та положення дисертації доповідались на конференціях: V міжнародній науковій конференції студентів та аспірантів «Молодь і поступ біології» (2009 р., м. Львів); конференції «International workshop magnetic phenomena in Micro- and Nano-structures» (2010 р., м. Донецьк); V регіональній науково-практичній конференції викладачів, науковців, аспірантів, молодих вчених та студентів «Біотехнологія XXI століття» (2011 р., м. Київ); міжнародній конференції «Functional Materials» (2011 р., с.м.т. Партеніт, АР Крим); VI всеукраїнській науково-практичній конференції «Біотехнологія XXI століття» (2012 р., м. Київ); всеукраїнській з міжнародною участю конференції молодих вчених "Хімія, фізика та технологія поверхні", (2012р., м. Київ); міжнародній науково-практичній конференції «Технології очищення води. Технічні, біологічні та екологічні аспекти» (2013 р., м. Київ); XI всеукраїнській науково-практичній конференції «Біотехнологія XXI століття» (2017 р., м. Київ).

Публікації. За результатами досліджень опубліковано 20 наукових праць, у тому числі 5 статей у наукових фахових виданнях (з них 4 статті у виданнях

України, які включені до міжнародних наукометричних баз), 2 статті у інших наукових виданнях, 1 патент України на корисну модель, 12 тез доповідей в збірниках матеріалів конференцій.

Структура та обсяг дисертації. Дисертаційна робота складається зі вступу, 5 розділів, висновків, списку використаних джерел літератури (132 найменувань) і 4 додатків. Робота викладена на 147 сторінках та проілюстрована 40 рисунками та 20 таблицями.

РОЗДІЛ 1. СТАН ПРОБЛЕМИ ВИЛУЧЕННЯ КАТІОНІВ ВАЖКИХ МЕТАЛІВ БІОСОРБЕНТАМИ ЗІ СТИЧНИХ ВОД

В Україні практично всі поверхневі води мають перевищення гранично допустимої концентрації (ГДК) по ВМ, особливо в районах розміщення потужних промислових і сільськогосподарських комплексів [1]. ГДК по міді у СВ, які дозволено скидати у відкриті водойми становить $0,1 \text{ мг/дм}^3$ (лімітуюча ознака шкідливості – загальносанітарна) і в деяких регіонах України СВ мають перевищення величини ГДК у 3-29 разів більше за норму [1]. ВМ – група елементів з металічними властивостями, що зазвичай включає перехідні метали, деякі металоїди, лантаноїди і актиноїди [15]. Враховуючи токсичність, здатність накопичуватися в навколишньому середовищі і масштаби поширення, загрозу становить значно менша кількість ВМ, які використовуються у великій кількості в промисловості і мають високу біологічну активність: Cd, Cu, Ni, Pb, Zn, Fe та ін [16].

Розробка сучасних ефективних способів і технологій очищення СВ від забруднюючих речовин, зокрема катіонів ВМ, а також пошук нових біосорбентів є актуальними проблемами сучасності. Перспективною модифікацією біосорбентів (полісахаридів, складних біополімерів рослинного походження, клітин мікробів і водоростей та ін.) є магнітомічення [17]. Магнітна модифікація може бути виконана за допомогою різних процедур, наприклад, за допомогою обробки біомаси магнітною рідиною, механохімічного синтезу або синтезу в присутності мікрохвильового випромінювання та інших [17]. До того ж, існує можливість обирати серед великої різноманітності мікроорганізмів найбільш доцільний біосорбент для вилучення катіонів ВМ, зокрема за патогенністю, СЄ і кінетикою біосорбції. А магнітна фільтрація забезпечує видалення з очищеної води відпрацьованого магнітоміченого біосорбенту у швидкісному режимі.

Процес біосорбції мікроорганізмами або їх продуктами ВМ значною мірою досліджено протягом останніх декількох десятиліть [18-25]. Автори робіт [26-30] зосереджувалися на таких аспектах біосорбції ВМ: 1) пошук і дослідження нових біосорбентів, 2) механізм біосорбції, 3) масштабний експеримент, промислове

впровадження. Дослідження біосорбентів необхідні для пошуку найбільш багатобіццяючих типів біомаси із значного обсягу легкодоступних, недорогих біоматеріалів [18, 21]. Біосорбція катіонів ВМ проходить одночасно по різним механізмам, про що свідчить різниця у СЕ дріжджів по відношенню, наприклад, до катіонів Cu^{2+} , Cd^{2+} і Pb^{2+} [31], Fe^{2+} , Pd^{2+} , Co^{2+} , Hg^{2+} [21] та інших катіонів ВМ. Існує проблема ідентифікації механізмів поглинання металів біосорбентами, а також токсичного впливу металів на мікроорганізми, які їх поглинають [32]. Відносно промислового впровадження відомо, що процес біосорбції магнітоміченим біосорбентом знаходиться на рівні пілотних проектів через ряд проблем технічного і технологічного характеру (постійне постачання мікробної біомаси для виробництва біосорбентів, значні витрати на ферментацію біомаси з єдиною метою – отримати біосорбент, вплив відмінних від цільових катіонів СВ на біосорбент, а також на його регенерацію), також передбачається, що біосорбція буде більш ефективною у разі використання гібридних технологій [24, 33, 34].

В роботах [18-30] ідентифіковано велику кількість біоматеріалів з високою здатністю до вилучення металів. Серед цих біосорбентів – морські водорості, бактерії, гриби, активний мул і відпрацьована біомаса мікроорганізмів. Дослідники переважно використовують побічні продукти харчової і мікробіологічної промисловості, тому що вони виробляються у великих кількостях, а їх повторне використання в тому самому технологічному процесі є витратним або ж зовсім не можливим. Також в роботі [22] описується використання магнітомічених мікробів і біополімерів для вилучення катіонів ВМ з розчинів з можливістю видалення біоагентів за допомогою магнітної сепарації.

Велика кількість робіт присвячена перспективному сорбенту – дріжджам *S. cerevisiae* [17, 21, 28, 35]. Труднощі, що існують у застосуванні біосорбції дріжджовою біомасою, примушують розглядати застосування гібридних технологій (біосорбція з фізико-хімічними методами очистки [3, 33], термічна обробка біосорбенту [36]), які пов'язані з різними процесами обробки реального потоку (додавання реактивів для корекції рН, внесення носіїв для видалення біомаси, наприклад, магнітною сепарацією [37]). Біосорбція дріжджами залежить

від таких параметрів як: рН робочого середовища [26], початкова концентрація іонів металу й біомаси, умови культивування, модифікації біомаси, присутність в середовищі різних лігандів і конкуруючих іонів металів [30], температура середовища, до того ж механізм біосорбції остаточно не з'ясований [38].

Механізми біосорбції іонів металів змінюються згідно з взаємним розташуванням іонів металів і центрів зв'язування іонів біосорбентом, і поділяються на [20]: позаклітинну акумуляцію, сорбцію клітинною поверхнею або преципітацію, внутрішньоклітинне поглинання. Тому досі не встановлено, яку біомасу краще використовувати: живу чи мертву. Спираючись на відсутність необхідності підтримання життєдіяльності мікроорганізмів дослідники віддають перевагу не живій біомасі. Технологія магнітомічених біосорбентів з магнітною сепарацією біомас розглядається багатьма дослідниками [4, 18, 20, 22, 34, 37].

Механізми прикріплення магнітних міток до дріжджових клітин різноманітні [35]. В процесі прикріплення магнітних міток використовуються мікророзмірні частинки >1 мкм і колоїдні розчини <200 нм [22]. В більшості випадків магнітні властивості міток зумовлені присутністю магнетиту Fe_3O_4 або магеміту $\gamma\text{-Fe}_2\text{O}_3$ та ін., тобто частинок феромагнетиків. Розмір частинок визначає фізичну поведінку і види можливих застосувань для конкретних магнітних міток. Наприклад, поверхню живих клітин обробляли гідрохлоридом поліаліламіну і натрію полістирен сульфонатом [39]. Ці полімери формували на поверхні клітини шар, на який прикріпляли магнітні мітки, а потім повторно наносили шар полімерів – метод шар за шаром. Такий спосіб магнітомічення дає змогу клітинам виживати після надання їм магнітних властивостей. Отже, основними задачами дослідження біосорбції ВМ є вибір і створення біосорбенту, і обґрунтування механізму сорбції ВМ цим біосорбентом, а також застосування в існуючих технологіях очищення СВ.

1.1 Біосорбція катіонів важких металів

Біосорбція є фізико-хімічним процесом, який відбувається природним

чином в певній біомасі і дозволяє їй концентрувати та зв'язувати забруднюючі речовини в її клітинній структурі [40]. Розрізняють пасивну і активну біосорбцію. Пасивна біосорбція – метаболічно незалежний процес [41]. Швидкість цього процесу складає від декількох до десятків хвилин. Активна біосорбція (біоконцентрування) – метаболічно залежний процес накопичення речовин, таких як токсичні хімічні речовини (зокрема ВМ), організмами самотужки і є як правило тривалим процесом. Біоконцентрування відноситься до біоаккумуляції. Біоаккумуляція більш широкий термін і відноситься до поглинання усіх речовин і їх проходження через клітинну мембрану. Біоаккумуляція відбувається в організмі, коли швидкість надходження речовини більше, ніж швидкість екскреції або метаболічної трансформації цієї речовини. Надалі будемо розглядати біосорбцію катіонів ВМ тільки як пасивний метаболічно незалежний процес.

1.1.1 Моделювання процесу біосорбції

Існують два основні механізми поглинання металів КС: 1) стехіометрична взаємодія з функціональними групами, що становлять КС, включаючи карбоксильну, амінну, фосфатну і фосфодіефірну тобто іонообмін; 2) фізико-хімічне поглинання за допомогою адсорбції або неорганічної преципітації [20, 40, 42-44]. Такі теоретичні моделі сорбції можуть використовуватися для пояснення й передбачення експериментальних даних [26].

Моделювання біосорбції з дослідженням механізмів поглинання металів ґрунтовно проведено в роботах [2, 40]. Для дріжджів *S. cerevisiae* прийнятний іонообмінний механізм, а остаточна модель комплексоутворення в літературі не наводиться [40]. Дослідження щодо комплексоутворення між компонентами КС дріжджів і ВМ досі тривають. Моделювання механізму комплексоутворення залежить від конкретного катіону металу, активностей і констант рівноваги проміжних комплексів. Механізм неорганічного мікроосадження базується на ефекті досягнення граничної розчинності компоненту в розчині і така ситуація може виникати локально на поверхні сорбенту в разі коливань рН або присутності

в розчині компонентів клітин [40]. Розчинність сульфату міді CuSO_4 при $0\text{ }^\circ\text{C}$, $20\text{ }^\circ\text{C}$ і $25\text{ }^\circ\text{C}$ складає 14%, 20,5 % і 23,05 % відповідно. Механізм неорганічної преципітації не розглядаємо в дисертаційній роботі, оскільки ймовірність виникнення таких локальних концентрацій в модельних розчинах з концентрацією 50–100 мг/дм³ не значна.

Механізм іонообміну можна записати у загальному випадку у вигляді рівняння реакції – розчинений компонент A (з валентністю a) обмінюється на зв'язаний компонент B (з валентністю b) [45]:



а константа рівноваги K_{AB} згідно з рівнянням реакції (1.1) буде:

$$K_{AB} = \frac{q_A^b C_{Bf}^a}{C_{Af}^b q_B^a} = \left(\frac{y_A^b x_B^a}{x_A^b y_B^a} \right) \frac{C_0^{a-b}}{Q^{a-b}}, \quad (1.2)$$

де q_A, q_B – СЄ компонентів A і B , моль/г;

$C_{zf}(x_z)$ – рівноважна концентрація (частка) компоненту z в розчині, моль/дм³;

y_A, y_B – рівноважна частка компонентів A і B в твердій фазі;

C_0 – молярна концентрація розчину, моль/дм³;

Q – рівноважна СЄ при концентрації C_0 , моль/г.

Тоді рівноважна ізотерма іонообміну для двохкомпонентної системи [45]:

$$y_A = \left(1 + \frac{x_B}{K_{AB} x_A} \right)^{-1}, \quad (1.3)$$

де x_A, x_B – рівноважна частка компонентів A і B в розчині;

K_{AB} – константа рівноваги реакції, згідно з формулою (1.2).

Вивчення кінетики й динаміки стаціонарного потоку надає інформацію щодо швидкості поглинання металу разом з гідродинамічними параметрами, які використовуються для розрахунку процесу біосорбції [46].

Емпіричні моделі адекватно відтворюють поведінку сорбційної системи, але з не значимою фізичною інтерпретацією. Тому такі моделі не можуть бути використані для пояснення процесів в системах, які працюють у різних умовах (не оптимальна температура, рН). Крім того, ізотерми біосорбції можуть мати вигляд

характерний до багатошарової моделі через комплексну природу біоматеріалів та при домінуванні різних механізмів сорбції, також як й у присутності деяких хімічних складових у розчинах [18, 19, 28]. Тож є значні відмінності між сорбцією з модельних розчинів і дійсних багатокомпонентних систем.

Достовірний аналіз і моделювання процесу біосорбції іонів з розчинів вимагають дослідження відповідних станів сорбційної рівноваги системи. У рівноважному стані переважає стале відношення між концентрацією розчиненої в розчині і адсорбованої речовини (тобто кількість розчиненої речовини до адсорбованої речовини на одиницю маси адсорбенту). Їх рівноважні концентрації є функціями температури. Залежність питомої кількості поглинутого компонента від його рівноважної концентрації в системі для заданої температури називають ізотермою сорбції. Деякі добре відомі з них описуються рівняннями Фрейндліха, Ленгмюра, Редліх-Патерсона і модель Брунера, Еммета та Теллера (БЕТ) [47].

Модель Ленгмюра (базується на утворенні моношару на поверхні сорбенту) і рівняння Фрейндліха (розроблено для різнорідних поверхонь) – найбільш широко застосовувані й використовувані в більшості досліджень. БЕТ модель описує багатошарову адсорбцію на поверхні адсорбенту й припускає, що модель Ленгмюра застосовується до кожного шару. Автори моделі БЕТ відмовились від припущення Ленгмюра, що на один центр поглинання припадає одна молекула [48].

На основі цих моделей можна розрахувати максимальну СС й відмінності в поглинанні ВМ різними мікроорганізмами. Рівняння Ленгмюра:

$$q = q_{\max} \frac{bC_e}{1 + bC_e}, \quad (1.4)$$

де q_{\max} – максимальна ємність сорбенту, мг/г;

b – константа Ленгмюра, відношення констант адсорбції і десорбції, $\text{дм}^3/\text{мг}$;

C_e – рівноважна концентрація іонів металу, $\text{мг}/\text{дм}^3$.

Рівняння Фрейндліха:

$$q = K_F C_e^n, \quad (1.5)$$

де K_F – рівноважна константа біосорбції, що представляє СС, мг/г;

n – емпірична константа.

Фізичний зміст константи n у дослідженнях сорбції дріжджами *S. cerevisiae* не встановлений [49]. З метою керування швидкістю процесу і дослідження механізму біосорбції, для перевірки експериментальних даних використовуються кінетичні моделі. Крім того, інформація про кінетику сорбції металу необхідна для вибору оптимальних умов для проведення промислового сорбційного експерименту. На практиці кожна з моделей випробовується на експериментальних даних і обирається найбільш адекватна за рядом критеріїв, одним з яких є мінімальне відхилення даних промислового експерименту від теоретичної моделі. В більшості випадків для біосорбції ВМ дріжджами *S. cerevisiae* з розчину з одним металом найбільш адекватною є модель Ленгмюра (1.4), а в деяких випадках модель Фрейндліха (1.5).

Для того, щоб описати кінетику процесу сорбції використовують псевдо рівняння швидкості, оскільки в цих рівняннях не враховується залежність зміни вимірюваної величини від часу (вважається що процес є стаціонарним).

Рівняння Лагергрена псевдо-першого порядку для швидкості на основі постійної СЄ має вигляд [50]:

$$\frac{\partial q}{\partial t} = k_1(q_{\max} - q), \quad (1.6)$$

де k_1 – константа швидкості адсорбції рівняння першого порядку, с^{-1} ;

q – СЄ в момент часу t , мг/г;

q_{\max} – максимальна ємність сорбенту в рівноважному стані, мг/г;

В роботі [50] інтегровано рівняння (1.6) з граничними умовами:

$$q = 0 \text{ при } t = 0, \quad (1.7)$$

$$q = q \text{ при } t = t, \quad (1.8)$$

з наступним математичним перетворенням отримано:

$$\ln(q - q_{\max}) = \ln q_{\max} - k_1 t, \quad (1.9)$$

Тоді з формули (1.9) рівняння кінетики сорбції псевдо-першого порядку [50]:

$$q = q_{\max}(1 - \exp(-k_1 t)), \quad (1.10)$$

На практиці часто трапляються розбіжності між експериментальними даними і рівнянням кінетики псевдо-першого порядку (1.10) через відставання

часу t , яке відбувається в наслідок наявності катіонів ВМ на поверхні біосорбенту або через зовнішній опір на початку процесу сорбції. Тому використовуються рівняння псевдо-другого порядку отримане на основі СЄ [45]

$$\frac{\partial q}{\partial t} = k_2(q_{\max} - q)^2 . \quad (1.11)$$

де k_1 – константа швидкості адсорбції другого порядку, с^{-1} ;

q – СЄ в момент часу t , мг/г;

q_{\max} – максимальна ємність сорбенту в рівноважному стані, мг/г;

Після інтегрування рівняння (1.11) кінетики сорбції псевдо-другого порядку з граничними умовами (1.7) і (1.8) [45]:

$$\frac{1}{q_{\max} - q} = \frac{1}{q_{\max}} + k_2 t . \quad (1.12)$$

Рівняння псевдо-другого порядку (1.12) у разі кінетики сорбції як правило дає коефіцієнт кореляції більше 0,98 між СЄ і тривалістю сорбції.

Дослідження з використанням рівноважних і кінетичних моделей можна знайти в ряді джерел [20, 29, 51-53]. В Університеті МакГілла Volesky [18] детально описав біосорбційну рівновагу й кінетику біосорбентів, наприклад, ізотермами сорбції з однокомпонентної і багатоконпонентної систем (розглянуто електростатичне зв'язування, дію рН, модель поверхні, модель Доннана, яка розглядає іонну силу, модель Вілсона для обміну іонами й так далі), біосорбційну ізотерму групової динаміки (модель масообміну для швидкості біосорбції).

Отже існує достатньо обґрунтований математичний апарат (моделі механізму, ізотерм і кінетики сорбції) для моделювання процесу біосорбції катіонів ВМ біосорбентами. В даній роботі моделювання кінетики сорбції проведемо згідно рівняння кінетики сорбції псевдо-другого порядку (1.12). Розглянемо і охарактеризуємо сучасний стан досліджень властивостей біосорбентів ВМ, а також параметри рівнянь Ленгмюра (1.4) і Фрейндліха (1.5), зокрема СЄ.

1.1.2 Біосорбенти важких металів

Існує велика різноманітність біоматеріалів з високою здатністю до

поглинання іонів металів. Серед них є: а) морські водорості (напр. *Sargassum natans*), б) бактерії (напр. *Bacillus subtilis*), в) гриби (напр. *Rhizopus arrhizus*), г) дріжджі (напр. *S. cerevisiae*), д) відпрацьована біомаса мікроорганізмів з харчової промисловості, е) модифіковані різними методами біосорбенти.

Використання відпрацьованих мікроорганізмів, як біосорбентів для сорбції ВМ і радіонуклідів, усуває дві проблеми відразу. Це використання вторинних і побічних продуктів виробництв для очищення СВ. Підприємства можуть продавати відпрацьовану біомасу й отримувати прибуток [19].

В останні роки досліджено багато водоростей в якості сорбентів, але з цієї гетерогенної групи бурі водорості виявилися найбільш ефективними субстратами, проте не найбільш дешевими. Щодо бурих водоростей – акцент робиться на їх біохімічні властивості [29], що відрізняє їх від інших біосорбентів. Ефективність водоростей пояснюється їх біохімічною структурою, яка відповідає за підвищену продуктивність серед біоматеріалів для поглинання. Зокрема, цими властивостями володіють складові КС, такі як альгінат (похідні альгінової кислоти) і фукоідан (сульфатований гетерополісахарид), які в основному відповідають за вловлювання ВМ [29]. Як недолік можна відзначити, що пасивне видалення іонів ВМ, таких як Cd^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} , Pb^{2+} , Cr^{3+} та Hg^{2+} за допомогою недорогих біоматеріалів на основі водоростей, вимагає, щоб субстрат володів високою поглинальною здатністю до металів і селективністю, а також підходящими механічними властивостями для промислових процесів відновлення ВМ.

В роботі [54] пропонується детальний опис макромолекулярних конформацій біополімерів КС водоростей. Бурі водорості поглинають ВМ вибірково [29]. Роль КС, яка містить полісахариди, оцінюється з точки зору їх потенціалу до зв'язування іонів металів, механізмів зв'язування, в тому числі ключових функціональних груп і процес іонообміну. Розрахунок кількості взаємодій іони ВМ-біомаса має фундаментальне значення для оцінки потенційної реалізації, тому досліджуються ізотерми сорбції, іонообмінні константи, а також моделі, які характеризують біосорбцію водоростями. Поглинальна здатність бурих водоростей при сорбції різних ВМ значно більша відносно інших груп

мікроорганізмів. Такий біосорбент залишається цікавим для вивчення.

Біомаса бурих водоростей *Sargassum natans* і *Ascophyllum nodosum* перевершує іонообмінні смоли в поглинанні золота і кобальту з розчинів [55]. СЕ по відношенню до цих металів в розчинах залежить від рН, в той час як рівноважні ізотерми при біосорбції не залежать від початкової концентрації іонів металу в розчині. Десорбція кобальту з водоростей проведена при рН 3,0 хлоридом кальцію, а утилізація водоростей підтверджена їх нестабільністю при низьких рН середовища [29].

Біосорбція Cr^{6+} , Cu^{2+} , Cd^{2+} і Ni^{2+} досліджена з використанням неживої біомаси різних видів бактерій *Pseudomonas* [56]. Для дослідження застосовано моделі Ленгмюра та Фрейндліха для різних біосорбентів. Обидві моделі показали адекватні експериментальні дані біосорбції цих металів. Максимальна СЕ виявилася найвищою для Ni^{2+} потім Cd^{2+} , Cu^{2+} і Cr^{6+} – 556, 550, 238 і 8,9 мг/г, відповідно. Максимальна ступінь видалення Cr^{6+} в цих дослідженнях складала близько 38%. В присутності Cr^{6+} значення видалення Cu^{2+} є максимальним і досягає 93% від його початкової концентрації. Відносно Cd^{2+} і Ni^{2+} , отримані аналогічні співвідношення видалення, які коливалися від 35% до 88%, проте їх максимальні кількості видалення отримані в разі окремої сорбції Cd^{2+} і Ni^{2+} . Взагалі про бактерії можна сказати, що багато видів здатні поглинати ВМ і їх катіони, тому немає потреби робити увагу на цих мікроорганізмах через ряд проблем пов'язаних з їх промисловим використанням, наприклад, патогенністю.

Численні роботи підтверджують [19, 20, 30], що *S. cerevisiae* у різному ступені можуть вилучати ВМ, відновлювати дорогоцінні метали й очищати від радіонуклідів водні розчини. Клітини дріжджів *S. cerevisiae*, оброблені лугом, здатні акумулювати широкий діапазон катіонів ВМ: Fe^{3+} , Cu^{2+} , Cr^{3+} , Hg^{2+} , Pb^{2+} , Cd^{2+} , Co^{2+} , Ag^+ , Ni^{2+} та Fe^{2+} [57, 58]. Порівняно ефективність різних мікроорганізмів для вилучення іонів міді в умовах біосорбції, осадження й десорбції [20]. Встановлено, що для іонів Cu^{2+} спостерігалась така залежність величини сорбції (мг металу/г біомаси) від типу біосорбенту: *Streptomyces rimosus* (9,07) > *Penicillium chrysogenum* (8,62) > *Fucus vesiculosus* (7,37) > активний мул (5,54) >

S. cerevisiae (4,93) > *Ascophyllum nodosum* (4,89) [20]. Нативні дріжджі *S. cerevisiae* не володіють найбільшою СЄ серед представлених, проте їх мала вартість як відпрацьованої сировини, а також значна кількість досліджень в області біосорбції цим мікроорганізмом роблять їх конкурентним в дослідженнях з вилучення ВМ.

Дріжджі *S. cerevisiae* з приєднаними до них магнітними мікророзмірними мітками досліджувались в якості сорбенту катіонів Cu^{2+} , Cd^{2+} і Ag^+ [4]. Відзначається, що в залежності від методу прикріплення магнітних міток до дріжджової клітини змінюються сорбційні характеристики для різних катіонів ВМ. До недоліків можна віднести використання мікророзмірних частинок, які не здатні проникнути в КС, а тому осаджуються на поверхні, що в свою чергу зменшує максимальну СЄ клітин.

1.2 Магнітомічені дріжджі *S. cerevisiae* як біосорбент важких металів

В останні 20 років КС дріжджів були ретельно досліджені за допомогою генетичних та біохімічних методів, що призвело до досягнень у розумінні їх біогенезу та молекулярної архітектури, а також механізмів, за допомогою яких ця органела реконструює себе у відповідь на зовнішній стрес. Вимірювання механічних властивостей КС або зондування поверхневих білків клітин для локалізації або взаємодії з зовнішніми біомолекулами є одними з найбільш гострих питань, які біологи розглядають сьогодні для кращого розуміння структурно-функціональних зв'язків КС дріжджів в процесах адгезії, флокуляції, агрегації, утворенні біоплівки, взаємодії з токсинами [59].

У різних формах *S. cerevisiae* в якості біосорбенту вивчалися для різних цілей. Наприклад, досліджувались і порівнювались в якості біосорбенту: живі клітини і мертві клітини [19, 60], інтактні клітини і деактивовані клітини [61], іммобілізовані клітини і вільні клітини, не оброблені і оброблені дією фізико-хімічних процесів клітини [62], дикі клітини і мутантні клітини, флокулюючі і не флокулюючі клітини, лабораторні культури і промислові відходи клітин, і біомасу різних виробництв [21, 63].

Велика кількість інформації щодо розуміння механізмів видалення металів *S. cerevisiae* отримана при порівнянні результатів біосорбції металів з використанням різних форм дріжджів [63]. Здатність до сорбції іонів металів багато в чому залежить від характеристик КС мікроорганізмів. КС дріжджів складається з фібрилярних вуглеводних полімерів – глюканів і мананів, що утворюють комплекси з білками й ліпідами, хітину й галактозаміну, тому вони здатні поглинати широкий діапазон катіонів ВМ і радіонуклідів.

У ранніх дослідженнях біосорбції ВМ використовувалися живі клітини, проте мертві клітини мають таку саму або більш високу здатність вилучати іони металів в порівнянні з живими [20] і можна нехтувати деякими обмеженнями, які виникають при використанні живих клітин: необхідність забезпечення поживними речовинами, чутливість до екстремальних значень рН або більшої концентрації іонів металів, і т.д. Типові метали, які сорбуються дріжджами *S. cerevisiae*, наведені в табл. 1.1.

Таблиця 1.1 – Метали, біосорбція яких вивчена на *S. cerevisiae*

Іон металу	рН	Максимальна СС, мг/г	Джерело, рік
Hg ²⁺	7,0	114,6	Yavuz та інші [65], 2006
Pb ²⁺	5,0	79,0	Amirnia та інші [38], 2015
Cd ²⁺	7,0	6,7–70,0	Ghorbani та інші [66], 2008, Wang та інші [21], 2009
Fe ²⁺	5,0	16,8	Bustard and McHale [64], 1998
Ni ²⁺	7,0	14,1	Yavuz та інші [65], 2006
Zn ²⁺	7,0	11,8	Wyk та інші [67], 2011
Co ²⁺	7,0	8,2	Abbas та інші [41], 2014
Cu ²⁺	5,5	7,8(29,9)	Amirnia та інші [38], 2015
Cr ⁶⁺	6,5	6,2	J.L. Wang, C. Chen [20], 2006
Al ³⁺	7,0	4,1	Abbas та інші [41], 2014

Сорбція таких іонів металів як свинець, кадмій, мідь, цинк, хром, нікель,

срібло, уран досліджена краще, ніж кобальту, молібдену, заліза, мангану, радію, селену, лантаноїдів і дорогоцінних металів. Варто відзначити, що *S. cerevisiae* можуть розрізняти катіони металів по їх валентності, зокрема селен Se^{4+} і Se^{6+} , сурму Sb^{3+} і ртуть (CH_3Hg та Hg^{2+}) [21]. Цей вид властивостей робить *S. cerevisiae* корисними не тільки для біологічного відновлення, видалення й повернення іонів металу, але й для аналітичного вимірювання іонів металів у розчинах. На основі ізотерм сорбції показано, що дріжджі надають перевагу в сорбції такому ряду іонів металів: $\text{Pb}^{2+} > \text{U}^{6+} > \text{Ag}^+ > \text{Zn}^{2+} \geq \text{Fe}^{2+} > \text{Cu}^{2+}$ [64]. В залежності від культури дріжджів, умов культивування і біосорбції, і обробки експериментальних даних цей ряд змінює положення деяких металів [21]. В табл. 1.1 представлено ряд іонів металів $\text{Hg}^{2+} > \text{Pb}^{2+} > \text{Cd}^{2+} \geq \text{Fe}^{2+} > \text{Ni}^{2+} > \text{Zn}^{2+} > \text{Co}^{2+} > \text{Cu}^{2+} > \text{Cr}^{6+} > \text{Al}^{3+}$ за СС *S. cerevisiae*.

В табл. 1.1 представлені результати досліджень з біосорбції живою біомасою дріжджів *S. cerevisiae*, проте, в залежності від модифікації КС, СС по відношенню до катіонів Fe^{2+} , Cu^{2+} , Zn^{2+} і Cd^{2+} може бути збільшена від кількох одиниць до десятків мг/г. Для розуміння механізму сорбції катіонів ВМ розглянемо структуру КС дріжджів докладно.

1.2.1 Структура клітинної стінки дріжджів *S. cerevisiae*

КС – перша клітинна структура [68], що вступає в контакт із зовнішнім середовищем, за винятком позаклітинних шарів, які в основному властиві бактеріальним клітинам. Будова і хімічний склад (табл. 1.2) клітин дріжджів *S. cerevisiae* дозволяє використовувати їх як біосорбент катіонів ВМ.

Негативно заряджені функціональні групи, такі як: карбоксильна, гідроксильна, сульфатна, фосфатна й амінна залежно від умов культивування в різному ступені розподілені в клітинній стінці дріжджів. Якісний і кількісний склад компонентів КС дріжджів може змінюватися залежно від умов і швидкості росту клітин і в процесі їх життєдіяльності або фізико-хімічної обробки як живих так і мертвих клітин. Зміна складу КС дріжджової клітини призводить і до зміни її сорбційних властивостей, а також електрокінетичного потенціалу.

Таблиця 1.2 – Склад КС дріжджів [68]

Компоненти	Процентний склад, %
Полісахариди	84,5
Манани	50,1
Лужно-розчинний глюкан	10,7
Лужно-нерозчинний глюкан	24,0
Білки	8,5
Ліпіди	6,5
Мінерали (фосфор)	0,1

Пасивна біосорбція [20] відбувається саме на поверхні КС. Для акумуляції іонів ВМ зовнішній манан-протеїновий шар КС дріжджів більш важливий, ніж внутрішній глюкан-хітиновий шар (рис. 1.1). Розглянемо докладніше будову КС грибів, а потім більш конкретно дріжджів виду *S. cerevisiae*.

КС грибів є жорсткою, вона забезпечує структурну підтримку клітини та форму, відрізняється по хімічному складу від прокаріотичних клітинних стінок. Грибкові КС в основному складаються із полісахаридів, білків, ліпідів, поліфосфатів та неорганічних іонів, які формують цементуючу матрицю. Хітин є звичайним компонентом грибкових клітинних стінок. Хітин є міцним, але гнучким полісахаридом, який складається із залишків N-ацетилглюкозаміну [69].

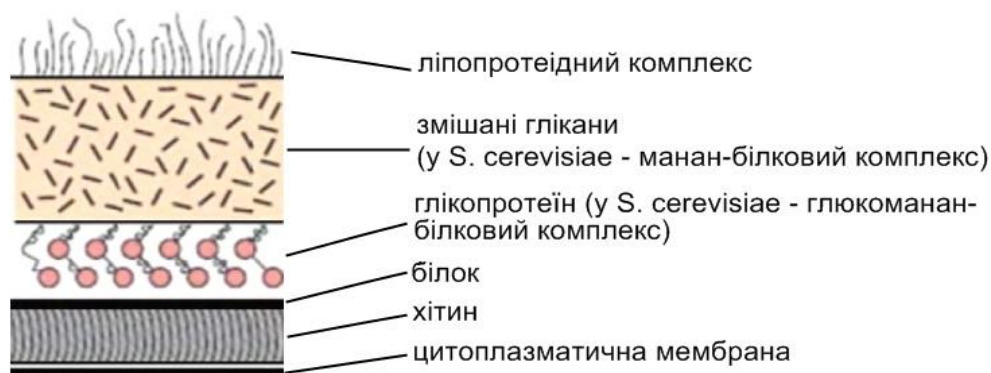


Рисунок 1.1 – Загальна структура КС грибів [21].

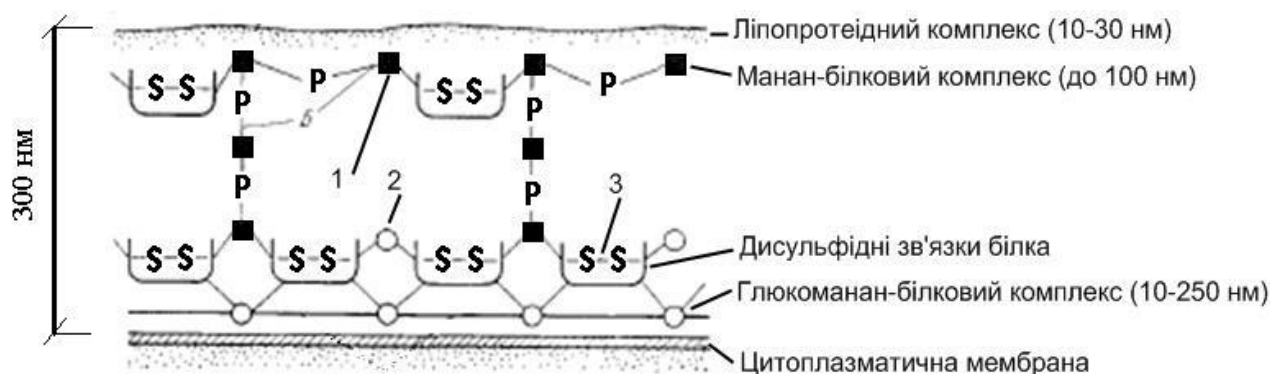
В дослідженнях структури грибкових клітинних стінок (рис. 1.1) виявлено 3 шари: 1) тонкий зовнішній шар, який складається із змішаних гліканів

(наприклад, глюканів, мананів або галактанів), і 2) товстий внутрішній шар мікротрубок із полісахаридних трубок хітину або целюлози з ланцюгами хітину в паралельному розташуванні, або ланцюгів целюлози, або в деяких дріжджів, ланцюгів не целюлозного глюкану, 3) цитоплазматична мембрана [21].

КС дріжджів відповідає по структурі клітинній стінці грибів [69]. Кількість шарів в них зазвичай дорівнює 3, але іноді і більше. Зовнішній, найбільш контрастний шар представляє собою ліпопротеїдну гладку мембрану товщиною 10-30 нм. Під нею залягає шар, що складається з манан-протеїнового комплексу, який досягає товщини 100 нм. При гідролізі комплексу отримані речовини тетра-, три- і діманозного типу, пов'язані з невеликою кількістю гексозаміну, білка і фосфатів. У різних представників дріжджів манани розрізняються за структурою молекул. У одних зв'язок між залишками манози відбувається по α -1,6-, α -1,2- і α -1,3- атомам, в інших – по β -1,2- і β -1,4- атомах [70].

Наступний шар складається майже повністю з глюкану (близько 94% глюкози і 6% гексозаміну); товщина його дорівнює 10-250 нм. β -глікозидні сполуки глюканів є хімічно стійкими і відповідають за жорсткість КС [21].

Схема, що показує будову дріжджової КС, представлена на рис. 1.2. КС становить від 6-15 до 27-30% маси сухої біомаси дріжджів. Отже, КС дріжджів містять глюкани, манани, білки, фосфати, ліпіди, а також глюкозамін, частина якого знаходиться в формі хітину.



1 – манан, який представляє собою розгалужений полісахарид (α -1,6-, α -1,2- і α -1,3- зв'язки, частково фосфорильовані); 2 – глюкан – розгалужений полісахарид з β -1,6-, β -1,3- зв'язками; 3 – дисульфідні зв'язки білка

Рисунок 1.2 – Схема будови дріжджової КС [70].

Локалізується хітин, мабуть, в брунькових рубцях, однак точно не відомо, чи у вигляді комплексу з глюканом або з мананом. З наведених даних в табл. 1.2 вміст глюкану і манану в сумі може становити 90% маси сухих клітинних стінок. Структура полісахаридів клітинних стінок докладно описана в роботі [21].

З точки зору розподілу функціональних груп на поверхні дріжджової клітини досліджено сорбцію катіонів Pb^{2+} , Cd^{2+} , Cu^{2+} КС *S. cerevisiae* кожною функціональною групою окремо [71]. Для того, щоб з'ясувати внесок груп, які беруть участь у сорбції катіонів ВМ, спочатку проведено визначення присутніх функціональних груп шляхом потенціометричного титрування, а потім – сорбцію катіонів ВМ КС дріжджів модифікованими шляхом блокування кожної групи окремо. Результати досліджень показані на рис. 1.3.

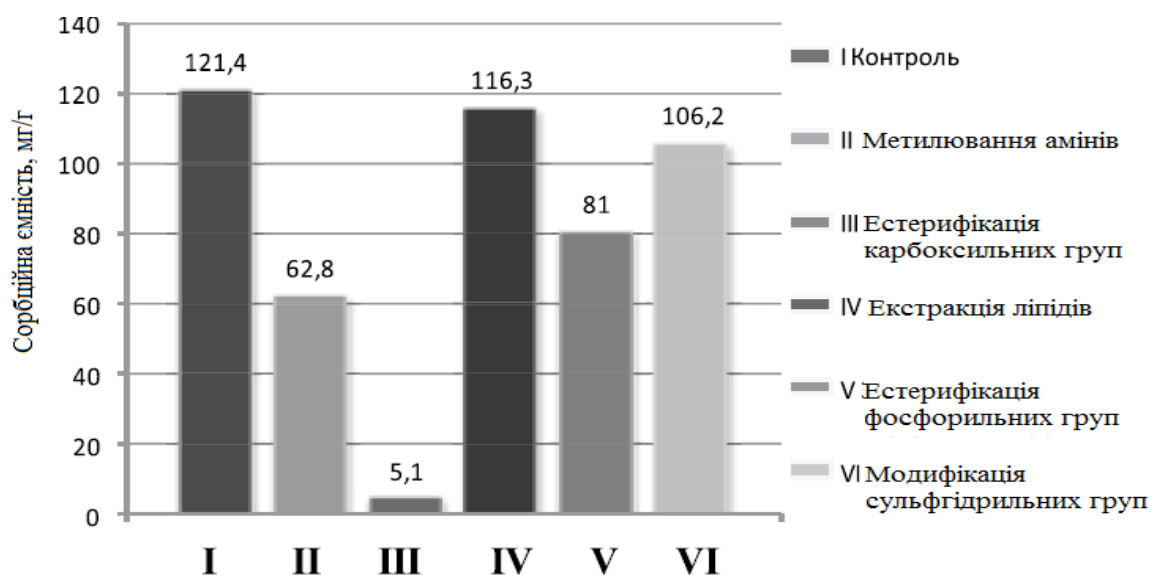


Рисунок 1.3 – Діаграма біосорбції Pb^{2+} дріжджовими КС [71]

Внесок в біосорбцію ВМ (наведено для Pb^{2+}) КС зменшується в такому ряду: карбоксильні групи > аміногрупи > фосфорильні групи > сульфгідрильні групи > ліпіди. Автори [71] припускають, що така саме тенденція розповсюджується і на катіони Cu^{2+} і Cd^{2+} .

1.2.2 Електрокінетичний потенціал клітин дріжджів *S. cerevisiae*

Поверхневий шар клітини представляє собою динамічну структуру [72], яка

реагує на зміни навколишнього середовища шляхом адсорбції іонів і макромолекулярних компонентів. Поверхня дріжджових клітин має від'ємний заряд [73] в сприятливих умовах їх існування. Теорія ДЛФО (Дерягін, Ландау, Ферві, Оверб'юк) описує клітинну адгезію в широкому діапазоні явищ [72], включаючи створення нових біоагентів і біосорбції ВМ. В даній теорії КС розглядається як поверхня з розподіленим електричним зарядом і описується її електричним потенціалом. Електричний потенціал на поверхні дріжджової клітини *S. cerevisiae* формується функціональними групами, а також іншими поверхневими утвореннями, і розраховується з ЕР [74]. Електростатична взаємодія негативно заряджених функціональних груп з катіонами, є одним зі специфічних механізмів пасивної біосорбції.

Наявність поверхневого заряду клітини у дріжджів дає їм, окрім можливості зв'язування катіонів, також можливість взаємодіяти з колоїдними магнітними рідинами, стабілізованими поверхнево-активними речовинами (наприклад, перхлорна кислота, жирні кислоти, цитрати, додециламін та ін.) в водному розчині. Для магнітної рідини характерно те, що окремі частинки наномангнетиту (нанорозмірні магнітні мітки) несуть на своїй поверхні розподілений електричний заряд, який змінює своє значення в залежності від того, в якому середовищі знаходяться наночастинки: в лужному – негативний, а в кислому – позитивний [75, 76]. Сили Ван-дер-Ваальса грають важливу роль у взаємодіях на поверхні розділу фаз [40,77]. Біологічні молекули на поверхні клітини можна розглядати як свого роду конденсовану систему, стан якої визначається слабкими не валентними взаємодіями. Останні дають вклад в стабілізацію конформаційного стану КС і його зміну в процесі функціонування.

Експериментально визначається перенесення в електричному полі колоїдних частинок (електрофорез) або середовища (електроосмос). Визначається електрокінетичний потенціал шляхом вимірювання ЕР (μ):

$$\mu = \frac{V}{E} \quad (1.13)$$

Електрофоретична швидкість V вимірюється за величиною переміщення,

розрахованого за час спостереження t в градієнті напруги електричного поля E ; μ має розмірність $[m^2/Vc]$. Величина електрокінетичного потенціалу ζ обчислюється за вимірюною EP за наступним рівнянням [78]:

$$\zeta = \frac{k\pi\eta V}{\varepsilon_0 E}, \quad (1.14)$$

де k - постійна, що залежить від форми частинок ($k = 6$ для малих сферичних частинок, $k = 4$ для циліндричних частинок),

V – швидкість руху частинки, м/с;

η – в'язкість розчинника, Па·с;

ε_0 – діелектрична проникність вакууму, Ф/м;

E – градієнт потенціалу електричного поля, В/м.

Згідно формули (1.14) відношення ζ/V не залежить від розміру частинок, проте, це справедливо, якщо розмір частинок значно більший товщини подвійного шару на поверхні клітини [78]. Нативні суспензії дріжджів мають граничне значення електрокінетичного потенціалу близько -20 мВ [79] при оптимальному для життєдіяльності рН 4,5-5,5. В залежності від умов культивування і етапу розвитку біомаси дріжджів електрокінетичний потенціал змінюється і може становити при рН 4 від -30,5 мВ до -36,0 мВ [80]. Варто відзначити, що різні промислові культури і штами хлібопекарських дріжджів при рН 5,5 будуть мати електрокінетичний потенціал в межах від -20 мВ до -36,0 мВ в залежності від середовища, в якому вони перебувають, тобто для кожної дослідної культури або суспензії необхідно визначати дзета потенціал окремо [81]. На рис. 1.4 представлено залежності електрокінетичного потенціалу дріжджів *S. cerevisiae* і нанорозмірного магнетиту Fe_3O_4 .

Варто відзначити, що модифікація поверхні дріжджових клітин буде впливати на електрокінетичний потенціал суспензії. Наприклад, в роботі [82] запропоновано метод покриття дріжджових клітин наноболонками з оксиду графену і магнітними наномітками, і показано, що в залежності від покриття змінюється електрокінетичний потенціал.

Отже, електрокінетичний потенціал дріжджових клітин є важливою

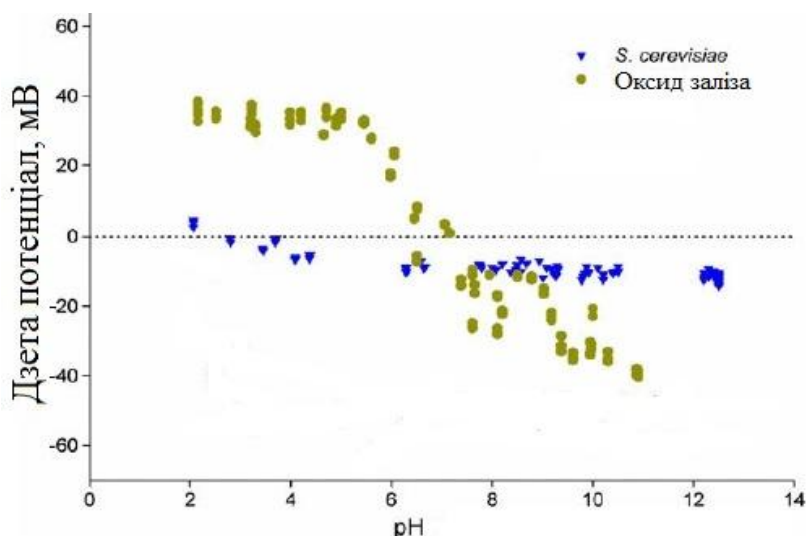


Рисунок 1.4 – Електрокінетичний потенціал дріжджів і наномагнетиту Fe_3O_4 [81]

характеристикою для визначення механізмів сорбції і прикріплення магнітних міток до поверхні дріжджової клітини.

1.2.3 Характеристики процесів сорбції різних важких металів дріжджами *S. cerevisiae*

Характеристики процесів сорбції, такі як тривалість процесу сорбції, C_∞ , визначаються з рівноважної і кінетичної моделі експериментально для кожного сорбенту. В табл. 1.3 наведені основні кінетичні і динамічні характеристики біосорбентів на основі *S. cerevisiae*.

Деякі мікроорганізми можуть продукувати або екскретувати такі позаклітинні полімерні речовини (ППР), як полісахариди, глікопротеїни, ліпополісахариди, розчинні пептиди й т.д. Ці речовини мають істотну кількість аніонних функціональних груп, які можуть адсорбувати іони металу. Джерела, опубліковані по біосорбції ППР, в основному присвячені бактеріальним організмам, таким як *Bacillus megaterium*, *Acinetobacter*, *Pseudomonas aeruginosa*, сульфат-редуючим бактеріям, ціанобактеріям або активному мулу [83], тоді як вивчення грибів і водоростей в цій області не повне [84-86]. Відомо, що відносно грибів роллю ППР у видаленні металів звичайно зневажають [85].

Таблиця 1.3 – Ізотермічні константи моделей Ленгмюра й Фрейндліха

Форма <i>S. cerevisiae</i>	Іон металу	Модель Ленгмюра			Модель Фрейндліха			Джерело
		q_{max} , мг/г	b , дм ³ /мг	r^2	K_F , мг/г	$1/n$	r^2	
Необроблені	Cu ²⁺	-	-	-	1,25	0,34	0,97	Wang та ін. (2002)
Оброблені метанолом	Cu ²⁺	-	-	-	0,99	0,31	0,96	Wang та ін. (2002)
Оброблені формальдегідом	Cu ²⁺	-	-	-	0,75	0,22	0,98	Wang та ін. (2002)
Оброблені глутар- альдегідом	Cu ²⁺	-	-	-	2,4	0,2	0,85	Wang та ін. (2002)
Магнітомічені	Cu ²⁺	25,5	0,016	0,99	-	-	-	Горобець та ін. (2010)
Висушені 24 год при 130 °С	Pb ²⁺	270,3	0,0155	0,98	-	-	-	Özer та Özer (2003)
Оброблені етанолом відходи дріжджів	Pb ²⁺	60,24	0,066	0,998	3,865	0,84	0,99	Goksungur та ін. (2005)
Флокулюючі пивні	Pb ²⁺	-	-	-	1,072	0,33	0,898	Ferraz та ін. (2004)
Висушені 24 год	Ni ²⁺	46,3	0,0436	0,96	-	-	-	Özer та Özer (2003)
Вільні клітини	Cd ²⁺	125	0,0012	0,98	-	-	-	Park та ін. (2003)
Оброблені метанолом відходи дріжджів	Cd ²⁺	31,75	0,092	0,998	3,08	0,69	0,967	Goksungur та ін. (2005)
Інтактні й вільні клітини	Am ³⁺	-	-	-	0,41	0,996	0,999	Liu та ін. (2002)
Флокулюючі пивні	Cr ³⁺	13,26	0,070	0,998	-	-	-	Goyal та ін. (2003)
Висушені 24 год	Cr ⁶⁺	32,6	0,0478	0,98	-	-	-	Özer та Özer (2003)
Модифіковані катионним ПАР	Cr ⁶⁺	94,34	0,41	0,98	31,15	0,31	0,97	Bingol та ін. (2004)
Вирощені в лабораторії	Cr ⁶⁺	-	-	-	6,08	0,5	-	Goyal та ін. (2003)

Примітка: q_{max} – максимальна СЕ; b – константа адсорбційної рівноваги; K_F – рівноважна константа біосорбції; n – безрозмірна константа; r^2 – коефіцієнт детермінації

Кількість теплоти адсорбції ΔG можна обчислити, використовуючи параметр моделі Ленгмюра b , і цей параметр можна виразити як функцію температури за наступним рівнянням Арреніуса [28]:

$$b = b_0 e^{-\frac{\Delta G}{RT}} \quad (1.15)$$

де b_0 – константа моделі Ленгмюра, $\text{дм}^3/\text{мг}$;

ΔG – кількість теплоти адсорбції, кДж/моль ;

R – універсальна газова постійна, Дж/мольК ;

T – температура сорбенту, К .

Біосорбція дріжджовою біомасою проходить переважно з перебігом ендотермічних реакцій [28], а кількість теплоти процесу складає 17,0 кДж/моль , 13,82 кДж/моль і 22,4 кДж/моль для сорбції Pb^{2+} , Cu^{2+} і Cd^{2+} , відповідно. Хімічні зв'язки мають енергію 20-900 кДж/моль (0,1-0,2 нм). Електростатичні сили між іонами або іонами і диполями дають енергію зв'язування в межах 2-20 кДж/моль , ван-дер Ваальсові – 20-40 кДж/моль , а дисперсійні сили (до 10 нм) – 8-40 кДж/моль [40]. З огляду на величини енергії зв'язування [28] можна стверджувати, що електростатичні взаємодії є переважними у разі пасивного поглинання катіонів Pb^{2+} , Cu^{2+} і Cd^{2+} для нативних *S. cerevisiae*.

1.3 Технологічні аспекти магнітомічення біосорбентів

В загальному випадку мікроорганізми для очищення СВ можуть бути магнітомічені за допомогою наступних відомих методів [35]: 1) не специфічне прикріплення до клітин магнітних наночастинок, 2) зв'язування магнетиту або магеміту на поверхні клітин, 3) специфічні взаємодії з імуномагнітними нано- і мікрочастинками, 4) біологічно залежне осадження парамагнітних сполук на поверхні клітини, 5) ковалентне зв'язування на магнітних носіях [87], 6) перехресне зшивання полімерів клітин або ізольованих клітинних стінок з багатофункціональними сполуками у присутності магнітних частинок [88, 89], 7) шляхом захоплення в біосумісні полімери разом клітин і магнітних міток [90]. Окремим випадком є біомінералізація магнетиту (наприклад, магнітотаксисними бактеріями), тобто сукупність біохімічних процесів, в ході яких відбувається утворення неорганічних твердих речовин в живих організмах [91].

Не специфічне прикріплення до клітин магнітних наночастинок відбувається, наприклад, за допомогою обробки суспензії магнітною рідиною [92]. Зв'язування магнетиту або голкоподібного магеміту на поверхні клітин є необоротним процесом і відбувається не залежно від зміни рН і поверхневого заряду [93].

Специфічне (ковалентне) зв'язування клітин з магнітним носієм можливе через функціональні групи. Для введення конкретної групи на поверхню магнітних носіїв можуть бути використані різні зв'язувальні агенти (наприклад, аміносилан, карбодіїмід, глутаральдегід), які згодом можуть взаємодіяти з реакційноздатними групами на поверхні клітини [87]. Недоліками специфічного (ковалентного) зв'язування магнітних носіїв є необхідність використання зв'язувальних агентів і складність процесу функціоналізації поверхні магнітних носіїв.

Біологічно залежне осадження парамагнітних сполук на поверхні клітини, як правило можливе завдяки осадженню ВМ, яке є наслідком росту і метаболізму клітин. Наприклад, мікроорганізми роду *Desulphovibrio* вирощені на гліцерил-3-фосфаті виділяють в середовище фосфат-аніони. Якщо в середовищі є ВМ, то вони будуть утворювати нерозчинні фосфати і осідати на поверхні клітин [94, 95]. Недоліки такого методу магнітомічення клітин пов'язані з необхідністю утворення саме магніточутливих сполук, а як відомо не всі солі ВМ є магнітними [95].

КС містять вільні аміногрупи та карбоксильні групи, які можуть бути легко зшиті дво- або багатофункціональними сполуками, такими як глутаральдегід або толуолдізоціанат. Клітини, як правило, зшиваються в присутності інертного протеїну, такого як желатин, альбумін, сире куряче яйце та колаген [95]. Мікробні клітини також можуть бути іммобілізовані шляхом іонного зв'язування через механізм флокуляції у присутності поліелектролітів. Якщо протягом всього процесу з'єднання в середовищі використовуються магнітні частки, то відбувається магнітомічення клітин або похідних клітинних стінок. Основним недоліком прикріплення до клітин магнітних носіїв, розташованих в біосумісних полімерах, є обмеження від дифузії – оскільки відбувається вирівнювання концентрацій полімеру і міток в середовищі між клітинами, максимальна кількість прикріплених магнітних міток має граничне значення [35].

Варто відзначити, що у випадку дріжджів *S. cerevisiae* досліджено магнітомічення: 1) обробкою магнітною рідиною (не специфічне зв'язування), 2) зшиванням клітин або ізольованих клітинних стінок з багатофункціональними сполуками у присутності магнітних частинок, 3) специфічним зв'язуванням клітин з магнітним носієм. Найбільш економічним для видалення барвників і технологічно доцільним методом магнітомічення [96] є не специфічне прикріплення до клітин магнітних наночастинок, зокрема для дріжджів в якості біосорбенту [97].

1.4 Багатовихрове магнітогідродинамічне перемішування

Явище МГД перемішування електролітів у схрещених електричному і магнітному полях стало базисом для розробки більш досконалих способів спільного магнітного і електрохімічного осадження декількох металів, одержання якісних покриттів для катодного осадження металів, створення хаотичного МГД перемішування електролітів (типу хаосу Лагранжа) за малих чисел Рейнольдса.

На цей час вплив магнітного поля на приелектродні процеси в електролітах пояснюється впливом на дисоційовані іони сили Лоренца, а також градієнтної сили, викликаних наявністю магнітного поля (у моделі газу парамагнітних молекул) типу $H^2 \cdot \nabla C$ і $C \cdot \nabla(H^2)$ [98], де C - концентрація парамагнітних молекул, H – напруженість магнітного поля. Градієнтними "магнітними" силами звичайно нехтують під час розгляду процесів далеко від електрода ($\nabla C = 0$) та в однорідному магнітному полі $\nabla(H^2) = 0$ [7, 99-101]. У такий спосіб вплив магнітного поля на приелектродні процеси в електролітах описується на основі замкнутої системи рівнянь - рівнянь магнітної гідродинаміки і конвективної теорії дифузії.

Розглянемо розподіл швидкості електроліту поблизу металевого циліндра у однорідному магнітному полі згідно роботи [7]. Якщо навколо нескінченного металевого циліндру радіусу R_0 , який знаходиться в електроліті, встановити зовнішнє магнітне поле напруженістю H_0 співвісне до головної осі циліндру, то, завдяки шорсткості Ra поверхні циліндра, зовнішнє магнітне поле орієнтує

мікροтоки в околі поверхні циліндра (рис. 1.5).

В циліндричній системі координат швидкість електроліту \vec{V} у тонкому шарі δ поблизу поверхні циліндра:

$$\vec{V} = V_r \vec{e}_r + V_a \vec{e}_a \quad (1.15)$$

де \vec{V} – вектор швидкості, мм/с;

V_r – радіальна швидкість, мм/с;

V_a – швидкість, яка враховує вплив магнітного поля, мм/с;

\vec{e}_r, \vec{e}_a – одиничні вектори вісей циліндричної системи координат.

Система рівнянь, яка описує рух електроліту на відстані $\rho > \delta$ під дією однорідного магнітного поля за умови магнітного числа Рейнольдса $Re_m = VH/\nu < 1$ [7]:

$$\begin{cases} \Delta \varphi = \frac{1}{\varepsilon_0} \cdot \vec{H} \cdot \text{rot} \vec{V} \\ (\vec{V} \cdot \nabla) \vec{V} = -\frac{1}{\rho} \nabla P + \nu \cdot \Delta \vec{V} + \vec{f} \\ \vec{f} = \frac{\sigma(C) \mu_0}{\rho} [\vec{H} \times \nabla \varphi] + \mu_0 [\vec{H} \times [\vec{H} \times \vec{V}]] \\ \text{div} \vec{V} = 0 \end{cases} \quad (1.16)$$

де Δ і ∇ – оператор Лапласа і набла, відповідно;

φ – електричний потенціал, В;

ε_0 – електрична стала, Ф/м;

μ_0 – магнітна стала, Гн/м;

H – напруженість зовнішнього однорідного магнітного поля, А/м;

\vec{V} – вектор швидкості, м/с;

ρ – густина розчину, кг/м³;

P – тиск розчину, Па;

ν – кінетична в'язкість розчину,

f – результуюча питома сила, яка включає сили Лоренца, Н/м³;

σ – провідність розчину, См/м.

Система рівнянь (1.16) має такий вигляд у випадку циліндричної симетрії, коли всі функції залежать від координати r . Граничні умови представляють собою швидкість потоку на поверхні циліндру і на стінках ємності:

$$\begin{cases} \vec{V} = 0 & \text{при } r = R_0 \\ \vec{V} = 0 & \text{при } r = R_1 \end{cases} \quad (1.17)$$

Система рівнянь має наступне загальне рішення [7]:

$$V_r = \frac{A}{r} \quad (1.18)$$

$$V_a = \frac{B_1}{r} + B_2 r^{A/V+1} + B_3 r \quad (1.19)$$

$$\frac{d\varphi}{dr} = H \sqrt{\mu_0 \varepsilon_0} \left(\frac{B_1}{r} + B_2 r^{A/V+1} + B_3 r \right) + \frac{C_1}{r} \quad (1.20)$$

де A, B_1, B_2, B_3, C_1 – довільні константи.

Експериментальне дослідження швидкості МГД потоку електроліту (азотної кислоти) в залежності від відстані r представлено на рис. 1.6.

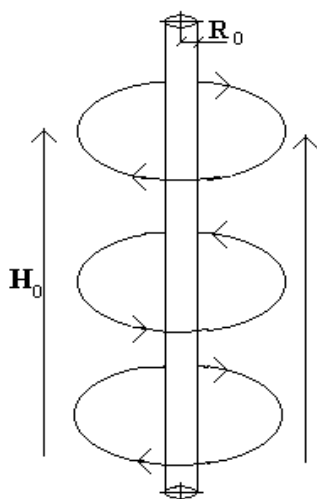


Рисунок 1.5 – Орієнтація потоків навколо циліндра

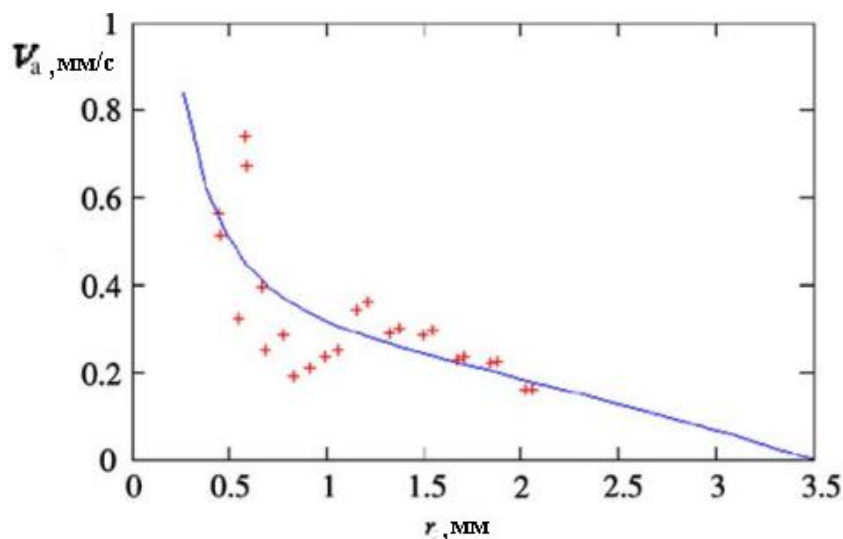
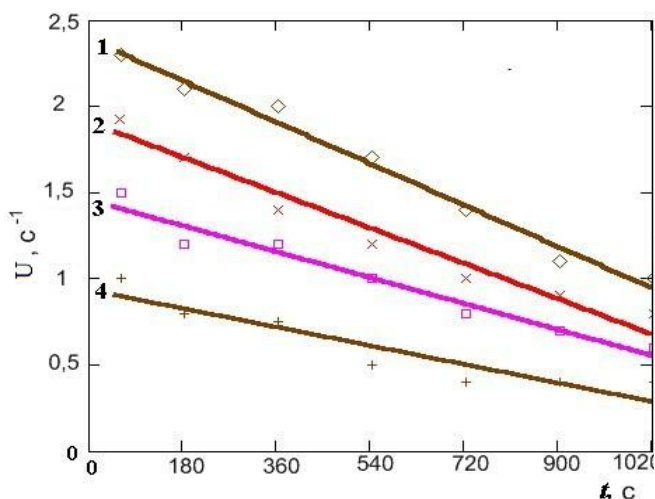


Рисунок 1.6 – Дослідження швидкості МГД потоку електроліту [7]

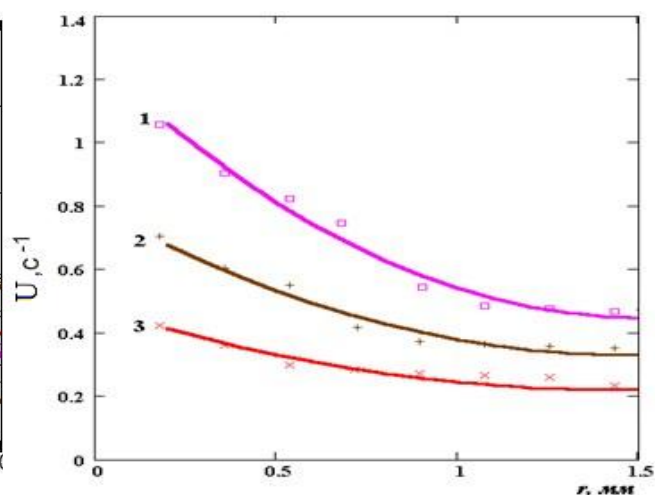
Дослідниками в роботі [102] експериментально показано, що швидкість МГД потоку електроліту спадає з часом t (рис. 1.7) і відстанню l між елементами насадки (рис. 1.8). Максимальна швидкість потоків водного розчину азотної кислоти, спостерігалася на віддаленні між елементами $l_1=880$ мкм.

Слід відзначити, що існує максимум швидкості (рис. 1.9), тому це необхідно враховувати для отримання оптимальних умов процесу. У разі розташування системи феромагнітних елементів на відстанях $r=0,8-1,2$ мм, досягалася V_{max} .



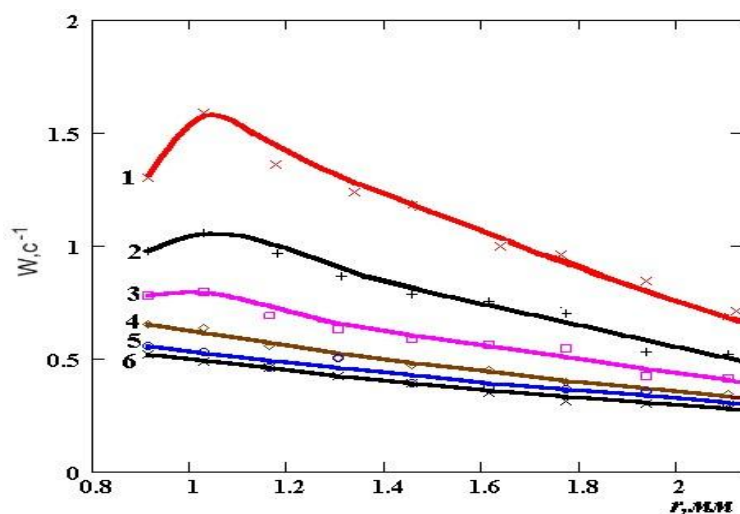
1 – $H_1=320$ кА/м; 2 – $H_2=240$ кА/м;
3 – $H_3=160$ кА/м; 4 – $H_4=80$ кА/м

Рисунок 1.7 – Залежність кутової швидкості МГД потоку електроліту від тривалості перемішування [102]



1 – $l_1=880$ мкм; 2 – $l_2=500$ мкм;
3 – $l_3=350$ мкм

Рисунок 1.8 – Залежність кутової швидкості електроліту від відстані до поверхні циліндру, $t=60$ с [102]



1 – 60 с; 2 – 180 с; 3 – 360 с; 4 – 540 с; 5 – 720 с; 6 – 900 с.

Рисунок 1.9 – Залежність кутової швидкості потоку розчину між двома циліндрами від відстані до поверхні циліндрів [103]

Таке багатовихрове МГД перемішування електролітів в околі феромагнітних циліндричних зразків використано в рамках цієї роботи для надання біосорбенту магнітних властивостей та для інтенсифікації біосорбції іонів ВМ. У разі використання методу багатовихрового МГД перемішування для прискорення процесу біосорбції вже на 4-5 хв біосорбент виходить на насичення. Перевага

цього методу полягає в тому, що десорбція майже не відбувається, що свідчить про ефективну сорбцію дріжджами іонів Cu^{2+} при МГД перемішуванні.

Недоліком в процесі сорбції з методом багатовихрового МГД перемішування є те, що відбувається корозія насадки, що створює труднощі в апаратурно-технологічній реалізації такого методу очистки СВ.

1.5 Методи обробки відпрацьованого біосорбенту

Видалена з потоку магнітомічена біомаса після очистки СВ об'єднується з надлишковим активним мулом, який концентрують і направляють на мулові майданчики, де проходить біодеградація мулу. Недолік магнітомічених дріжджів полягає в тому, що магнетит ефективно не розкладається біологічним шляхом, тому магнітомічений біосорбент потребує іншого методу утилізації.

Відпрацьований магнітомічений біосорбент видаляють і концентрують за допомогою магнітної сепарації [22]. В подальшому ВМ, зв'язаний на поверхні сорбенту за допомогою різних конкурентних процесів, можна видалити десорбцією неруйнівними фізико-хімічними методами, що використовують хімічні елюенти, а також деструктивними способами [36, 104]. Десорбція може бути досягнута шляхом термічної або мікрохвильової обробки або з різними органічними розчинниками як кислими так і лужними розчинами (табл. 1.4) залежно від характеру хімічних сполук, які утворились під час сорбції [105-107].

Таблиця 1.4 – Принципові методи обробки відпрацьованого біосорбенту [36]

Вид обробки	Категорія	Методи
Не руйнівна	Хімічна	Кислоти: HCl , H_2SO_4 , H_3PO_4 , оцтова кислота та інші.
		Луги: NaOH , KOH , NH_4OH та інші
		Органічні розчинники: етанол, метанол, ацетон та ін.
		Інші сполуки: CaCl_2 , KSCN , Na_2CO_3 , KHCO_3 , ЕДТА
Деструктивна	Фізична, хімічна	Спалювання, розчинення в сильних кислотах або лугах
		Нагрівання, мікрохвильове опромінення
Фізична		Нагрівання, мікрохвильове опромінення

Для обробки промислових стоків, для відновлення рідкісних або цінних металів, деструктивна обробка сорбенту економічно обґрунтована [36, 108, 109].

Також постає питання утилізації відпрацьованого магнітоміченого біосорбенту. В залежності від способу магнітомічення і виду обробки суспензії мікроорганізмів, можливо провести десорбцію магнітних міток з біомаси (повторне використання магнітних міток та за можливості - біомаси) або в протилежному випадку утилізувати сорбент фізичними або хімічними методами.

Питання обробки відпрацьованого біосорбенту є актуальним, тому бажано отримувати біосорбенти, які після біосорбції можливо обробити так, щоб використати в інших технологічних циклах і схемах. Тому метод магнітомічення з точки зору технологічності має забезпечувати з одного боку стійкість комплексів «магнітні мітки-дріжджова клітина», а з іншого давати можливість ефективно розділити ці комплекси або використати магнітомічену біомасу в інших технологіях, наприклад, спалювання до активованого вугілля з Fe_3O_4 і тому подібне.

Висновки до розділу 1

В розділі 1 розглянуті питання виготовлення магнітомічених біосорбентів, зокрема метод багатовихрового МГД перемішування, і їх застосування для видалення катіонів ВМ зі СВ. Розглянуті механізми прикріплення магнітних міток і сорбції катіонів ВМ КС дріжджів *S. cerevisiae*. Відзначено, що основними проблемами процесу біосорбції ВМ є створення ефективного біосорбенту і обґрунтування механізму сорбції катіонів ВМ цим біосорбентом, а також видалення відпрацьованого сорбенту з очищеної рідини. Недоліком більшості методів прикріплення магнітних міток до клітин є використання сполук для функціоналізації поверхні магнітних міток або поверхні клітин. Магнітомічення *S. cerevisiae* методом багатовихрового МГД перемішування використовує метод не специфічного зв'язування магнітних міток КС. Не специфічне зв'язування дріжджами має ряд переваг відносно інших методів, а дослідження у напрямку вдосконалення магнітоміченого біосорбенту – актуальні на теперішній час.

РОЗДІЛ 2. МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ, МАТЕРІАЛИ І УСТАНОВКИ

Дослідження процесів, які відбуваються на поверхні клітин в загальному випадку є багатофакторною задачею. Тут необхідно враховувати склад КС, склад і умови зовнішнього середовища, здатність клітини поглинати необхідні компоненти розчину, здатність клітин до седиментації та дисперсність. Склад і будова КС дріжджів передбачає наявність на її поверхні електричного потенціалу, що дає можливість розглядати процес сорбції катіонів на поверхні клітини з точки зору відповідних електричних явищ. Мірою електричної взаємодії в такому випадку буде виступати електрокінетичний потенціал клітини. Тому для дослідження механізмів сорбції КС необхідно дослідити ЕР дріжджів і на основі отриманих результатів розробити оптимальні умови отримання і склад комплексів магнітоміченого біосорбенту. Також необхідно дослідити вклад функціональних груп на поверхні дріжджової клітини на СЕ магнітоміченого біосорбенту.

Для дослідження електрокінетичного потенціалу магнітоміченого біосорбенту використано електрофорез. Для дослідження процесу біосорбції катіонів Fe^{2+} і Cu^{2+} в модельних системах розглянуто кінетику цього процесу з визначенням оптимальних умов. Залишкові концентрації ВМ визначали колориметричним методом за допомогою спектрофотометра за відомими методиками.

Дослідження кінетики сорбції дає змогу визначити рівноважний стан сорбційної системи і надає значення тривалості біосорбції. Аналіз емпіричних даних насичення біосорбенту катіонами металів проведено згідно моделі моношарової сорбції Ленгмюра.

Оскільки отриманий магнітомічений біосорбент має вилучатись з розчину за допомогою ВГМС, то проведено дослідження магнітної сприйнятливості комплексів «дріжджова клітина–магнітні мітки». Обрано оптимальний склад (раціональне співвідношення біомаси і магнетиту) комплексів «дріжджова клітина–магнітні мітки».

2.1 Матеріали

У дослідженнях використані наступні реактиви:

1) для виготовлення колоїдного магнетиту: хлориди заліза $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (ч) і $\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (ч), хлоридна HCl (чда) і перхлоратна HClO_4 (чда) кислоти, гідроксид амонію NH_4OH (чда);

2) для створення магнітоміченого біосорбенту: магнітна рідина з нанорозмірним магнетитом Fe_3O_4 , азотна HNO_3 (хч), суспензія дріжджів *S. cerevisiae*;

3) для дослідження процесу біосорбції: суспензія магнітомічених дріжджів, кристалогідрат сульфату міді $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (чда) і гептагідрат сульфату заліза $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (ч);

4) для дослідження EP: суспензія *S. cerevisiae*, магнітомічений біосорбент, буферні розчини калій фосфорнокислий (чда) і натрій фосфорнокислий (чда), NaHCO_3 , NaOH (чда), HNO_3 (хч);

5) для визначення концентрацій катіонів ВМ: стандартні розчини Cu^{2+} та Fe^{2+} (1 г/дм³), гідроксид амонію (чда), 1,10-фенантролін гідрохлорид (орто-фенантролін) $\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$ (чда), амоній оцтовокислий (ч), оцтова кислота (хч), солянокислий гідроксиламін (чда);

6) для дослідження сорбції з блокуванням функціональних груп: магнітомічений біосорбент, метиловий спирт (чда), хлоридна кислота(чда), формалін (чда), формальдегід (чда), мурашина кислота (чда), ацетон (чда), гідроксид натрію (чда).

Для створення комплексів «дріжджова клітина-магнітні мітки» використано колоїдний магнетит Fe_3O_4 , виготовлений на кафедрі біоінформатики КПІ ім. Ігоря Сікорського згідно методу, який описаний в роботі [110], хлібопекарські дріжджі *S. cerevisiae* в пресованій формі з відносною вологістю 74% виробництва ПрАТ «Ензим» штами ЛК-22 і К7.

Для видалення відпрацьованої біомаси дріжджів використовували паперові фільтри, центрифугування або ВГМС в залежності від стану суспензії.

2.2 Методика прикріплення магнітних міток до клітин дріжджів

2.2.1 Метод магнітомічення біомаси дріжджів *S. cerevisiae*

В колбі Ерленмейєра готували суспензію дріжджів *S. cerevisiae*, розчинену в дистильованій воді, з концентрацією $8 \cdot 10^6$ кл/см³ (100 мг сухих дріжджів в 1 дм³) або кратною цій концентрації. Отриману суспензію перемішували магнітною мішалкою у вільному об'ємі з частотою обертів 180 хв^{-1} протягом 15 хв. Отриману суспензію використано у наступних методиках приготування зразків.

Концентрацію дріжджової суспензії визначали на фотоколориметрі КФК-2 згідно градуовального графіку. Магнітну рідину [110] отримували за модифікованою методикою роботи [75]. Модельний колоїдний розчин магнетиту отримували з концентрацією 1 г/дм³. Робочі магнітні рідини отримували шляхом розведення модельного колоїдного розчину в 50, 25, 10 і 5 разів.

Приготування термічно-оброблених клітин *S. cerevisiae* робили наступним чином: суспензію дріжджів з відомою концентрацією герметично закривали і підігрівали до температури 60 °С і витримували при постійній температурі 30 хв. Після обробки суспензію охолоджувався до кімнатної температури.

Отриману суспензію дріжджів *S. cerevisiae* змішували [111] з магнітною рідиною відповідної концентрації і отримували суміші зі співвідношеннями мас дріжджів до магнетиту 1:100, 1:50, 1:25, 1:17, 1:12,5 і 1:10, таким чином маса магнітних міток відносно маси дріжджів складає, відповідно, 1%, 2%, 4%, 6%, 8% і 10%. Для дослідження максимальної СС *S. cerevisiae* по магнетиту використані співвідношення мас дріжджів до магнетиту 1:5, 1:2 і 1:1 відповідно.

Суміш дріжджів і колоїдного розчину Fe₃O₄ направляли на багатовихрове МГД перемішування ($15\text{-}18 \text{ хв}^{-1}$) або механічне перемішування ($0\text{-}180 \text{ хв}^{-1}$).

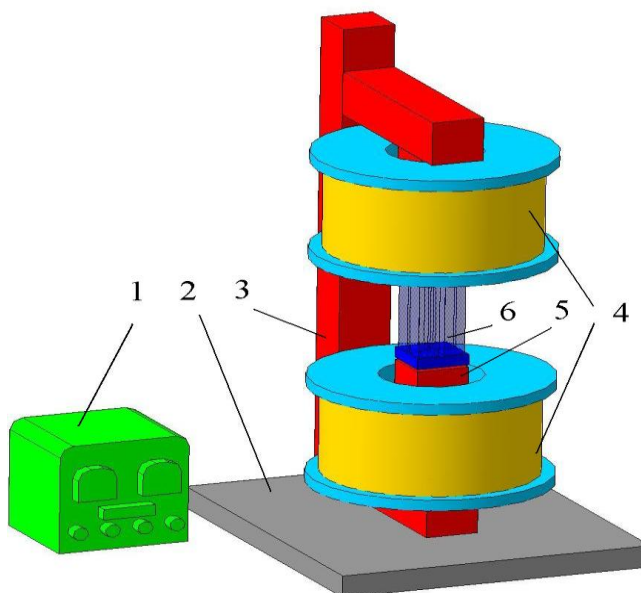
Для процесу багатовихрового МГД перемішування використана установка, описана у розділі 2.2.2. Отриману суміш доводили до рН в межах 2,5-5,5 азотною кислотою для модифікації клітинних стінок дріжджів частинками Fe₃O₄ під час багатовихрового МГД перемішування. Згідно роботи [102] при значенні рН 2,5

швидкість потоків електроліту навколо феромагнітних елементів складає 1,1 мм/с і спадає до 0,9 мм/с за 10 хв.

Для кожної серії дослідів кювету з розчином і феромагнітною насадкою встановлювали в робочий зазор магнітної системи установки із напруженістю зовнішнього магнітного поля 200-280 кА/м, де відбувався процес перемішування тривалістю до 600 с і, власне, створення комплексів магнітоміченого біосорбенту.

2.2.2 Експериментальна установка магнітомічення клітин дріжджів

Установка для проведення процесу багатовихрового МГД перемішування представляє собою електромагніт з кюветою, в яку встановлюється феромагнітна насадка. Конструкція електромагніту представляє собою магнітопровід, який кріпиться до основи, і дві котушки індуктивності. Ефективна величина магнітного поля на полюсних наконечниках регулюється завдяки блоку керування. Установка для багатовихрового МГД перемішування (рис. 2.1) складається з блоку керування (1), нерухокої основи (2), магнітопроводу (3) з системою електромагнітів (4), полюсних наконечників (5) і електрохімічної комірки (6).

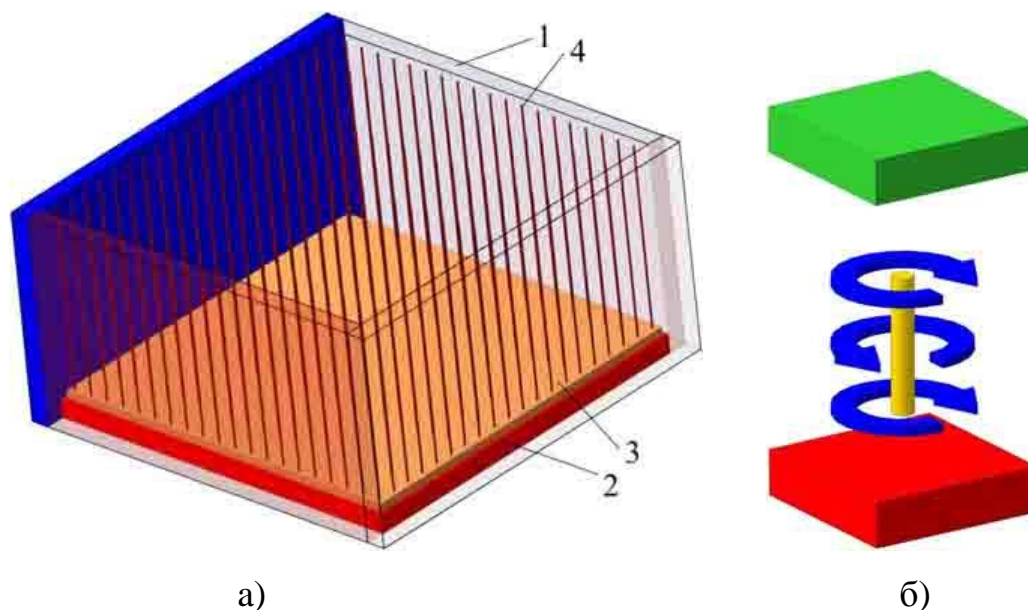


1 – блок керування, 2 – нерухома основа, 3 – магнітопровід, 4 – котушки індуктивності, 5 – полюсні наконечники, 6 – кювети з феромагнітними насадками

Рисунок 2.1 – Установка для багатовихрового МГД перемішування розчинів

Установка дозволяє плавно змінювати зовнішнє магнітне поле в діапазоні 0–400 кА/м. Величина робочого зазору між полюсними наконечниками регулюється. Установка налаштована на встановлення 4 кювет об'ємом по 30 см³ кожна, загальним об'ємом 120 см³. Враховуючи, що в кожному кювету встановлюється феромагнітна насадка, ефективний робочий об'єм однієї серії випробувань складає 200 см³.

Апарат для багатовихрового МГД перемішування складається з реактора і системи електромагнітів. Високоградієнтна феромагнітна матриця (4) розташована в реакторі (1). Феромагнітна матриця представлена комплектом 20×20 паралельно орієнтованих сталевих циліндрів діаметром 0,5 мм (ДСТУ 1050–88) на відстані $l=5$ мм один від одного. Циліндри закріплені на основі з оргскла (3) і є знімними. Реактор з матрицею показано на рис. 2.2а, а напрямки вихрів навколо одного елемента насадки (циліндра) на рис. 2.2б.



1 – реактор, 2 – підкладка з фланцями, 3 – знімна основа з немагнітного матеріалу (оргскла) для матриці, 4 – сталеві циліндри

Рисунок 2.2 – Апарат для багатовихрового МГД перемішування: а) реактор з матрицею ВГФН; б) напрямки вихрів навколо феромагнітного циліндра в магнітному полі

2.3 Метод визначення електрофоретичної рухливості клітин *S.cerevisiae*

Відому методику визначення ЕР [112, 113] було адаптовано для визначення ЕР клітин дріжджів [10]. Для кожного дослідження з вимірювання ЕР підготовлено зразки магнітомічених клітин дріжджів шляхом розведення модельних розчинів в 20 разів, для того щоб спостерігати рух окремих клітин. При вимірюванні ЕР зразків клітин рН суспензії змінювали в діапазоні від 1,0 до 8,0 з кроком 1,0 за допомогою додавання азотної кислоти або гідроксиду натрію різних молярних концентрацій в діапазоні 0,05-0,15 моль/дм³. Низька молярна концентрація пояснюється необхідністю дотримання ламінарного режиму потоку.

З кожного зразку відбиралось 2 см³ і наносились на предметне скельце, на якому встановлені золоті електроди. Система закривалась покривним скельцем і зажимними механізмами. Отриманий зразок встановлювався на предметному столі мікроскопа, який працював на просвітлення зразку (збільшення окуляра – х5, збільшення лінзи – х20, загальне збільшення – х100). До електродів подавали напругу $U=9$ В. Відстань між електродами $R=30$ мм. Для визначення загальної ЕР використано рівняння (1.13):

$$\mu_{заг} = V_{заг} / E = (l / t) / (U / R), \quad (2.1)$$

де $\mu_{заг}$ – електрокінетична рухливість, м²/Вс;

$V_{заг}$ – середня швидкість клітин дріжджів в електричному полі, м/с;

E – напруженість електричного поля між електродами, В/м;

l – довжина шляху, яким рухалась клітина, м;

t – тривалість спостереження, с;

U – різниця потенціалів, прикладена до електродів, В;

R – відстань між електродами, м.

Таким чином, в дослідах одночасно вимірювались дві величини – довжина шляху, пройденого клітинами, і час, за який пройдено цей шлях.

Оскільки в формулі (2.1) визначається видима електрокінетична рухливість, необхідно врахувати рухливість електроосмотичного потоку для визначення дійсної ЕР клітин. Скористаємось формулою [114]:

$$V_{заг} = \varepsilon E d / (\eta + \varepsilon^2 d / \kappa a) \quad (2.2),$$

де $V_{заг}$ – швидкість руху клітин в рідині, м/с;

ε – заряд рухливої частини подвійного електричного шару, Кл;

d – товщина подвійного електричного шару, м;

η – в'язкість розчину, Па·с;

κ – питома електропровідність розчину, См·м⁻¹;

a – радіус частинки, м.

Швидкість руху клітин може бути записана у вигляді двох граничних випадків:

$$V = \varepsilon E d / \eta, \quad (2.3)$$

у разі $\varepsilon^2 d / \eta \kappa a \ll 1$, і

$$V = \kappa E / \varepsilon \quad (2.4)$$

у разі $\varepsilon^2 d / \eta \kappa a \gg 1$.

В нашому випадку буде працювати формула (2.3) з прямою пропорційністю між зарядом ε і швидкістю V , оскільки виконується нерівність (2.5) через низьку молярність електроліту:

$$\varepsilon^2 d / \eta \kappa a \ll 1 \quad (2.5)$$

У разі ідеального електрокінетичного потоку, в якому електрокінетичне поле швидкості $V_{заг}$ пропорційне напруженості локального електричного поля [114]:

$$V_{заг} = \mu_{заг} E = V_{КЛ} \pm V_{ЕОП} = (\mu_{КЛ} \pm \mu_{ЕОП}) E \quad (2.6)$$

Для врахування рухливості електроосмотичного потоку на ЕР клітин проведено вимірювання окремо електропровідностей усіх електролітів. На основі проведених вимірювань за різницею між загальною ЕР і рухливістю іонів розраховано дійсну ЕР клітин:

$$\mu_{КЛ} = \mu_{заг} - \mu_{ЕОП} \quad (2.7)$$

де $\mu_{КЛ}$ – ЕР клітини, м²/Вс;

$\mu_{ЕОП}$ – рухливість іонів електроліту, м²/Вс.

Рухливість іонів можна визначити із рівняння питомої електричної провідності електролітів [114]:

$$\kappa = (\mu_+ + \mu_-) F C a \quad (2.8)$$

де κ – електропровідність електроліту, См/м;

μ_+ – рухливість катіонів електроліту, м²/Вс;

μ_- – рухливість аніонів електроліту, м²/Вс;

F – число Фарадея, (96500 Кл/моль);

C – молярна концентрація, моль/м³;

a – ступінь дисоціації.

Враховуючи той факт, що ступінь дисоціації електроліту $\alpha \approx 1$, можна застосувати закон Кольрауша [114]:

$$\lambda^\infty = (\mu_+^\infty + \mu_-^\infty) F = \lambda_+^\infty + \lambda_-^\infty \quad (2.9)$$

де λ^∞ – молярна електропровідність електроліту при нескінченному розведенні, См·м²/моль;

λ_+^∞ – молярна електропровідність катіонів електроліту при нескінченному розведенні, См·м²/моль;

λ_-^∞ – молярна електропровідність аніонів електроліту при нескінченному розведенні, См·м²/моль.

Отже сума $\mu_+^\infty + \mu_-^\infty$ представляє собою рухливість іонів μ_{EOI} при нескінченному розведенні електроліту і дорівнює відношенню λ^∞/F [114]. В дійсних розчинах виникає необхідність провести вимірювання молярної електропровідності електролітів.

За допомогою метода кондуктометрії, який базується на визначенні опору провідника шляхом вимірювання сили струму, можна визначити електропровідність електроліту і як наслідок – відношення $\lambda_{експ}/F$, яке представляє собою електроосмотичну рухливість μ_{EOI} для кожного електроліту, який був використаний в дослідженнях.

Для всіх дослідів виміряна величина сили струму, який проходить через електроліт (представлений розчином HNO₃ або NaOH) у відсутності біологічного агенту. Встановлено, що величина μ_{EOI} знаходилась в діапазоні 0,005-0,009 м²/Вс і врахована в розрахунку результатів $\mu_{кл}$.

2.4 Установка і метод визначення електрокінетичного потенціалу дріжджів

Метод описаний в пункті 2.3 дає можливість спостерігати EP кожної окремої клітини, проте існують автоматичні установки. Одна з них - установка Zetasizer Nano ZS, виробництва компанії Malvern Instruments Ltd, Великобританія. Фізичний принцип визначення електрокінетичного (дзета) потенціалу - визначення EP об'єктів. Зразок розташовують у кюветі з двома електродами. На електроди подають напругу і в об'ємі кювети на зразки діє електричне поле. Молекули або частинки, які мають заряд (точніше - ефективний дзета-потенціал) будуть рухатися у напрямку до протилежно зарядженого електроду, при цьому їх швидкість (рухливість) залежить від величини дзета-потенціалу. Так, за відомою EP визначається дзета-потенціал за формулою Гельмгольца – Смолуховського:

$$\zeta = \mu \eta / \epsilon \epsilon_0, \quad (2.10)$$

де η – в'язкість розчину, Па·с;

μ – EP, м²/Вс;

ϵ – відносна проникність середовища;

ϵ_0 – електрична стала, Ф/м.

Метод вимірювання швидкості частинки базується на ефекті Доплера. Під час вимірювання застосовують змінне електричне поле двох частот. У разі наведення поля високої частоти визначають зсув фази розсіяного світла (PALS), а зсув частоти вимірюють у разі наведення низькочастотного електричного поля. PALS є більш чутливим методом, але в результаті дає тільки середнє значення дзета-потенціалу. Zetasizer Nano використовує обидва підходи, що гарантує найкращий результат.

2.5 Метод дослідження сорбційної здатності магнітомічених біосорбентів

Дослідження сорбційної здатності передбачає 2 етапи. Перший етап – це дослідження кінетики сорбції і як результат визначення тривалості процесу

сорбції до настання рівноважного стану сорбційної системи, тобто коли процеси сорбції і десорбції з поверхні КС відбуваються з постійною швидкістю. Другий етап передбачає побудову ізотерми сорбції відповідного сорбенту по відношенню до одного або багатьох компонентів розчину. Як наслідок визначається модель, яка відповідає отриманій експериментальній ізотермі за допомогою оцінки найменшої сумарної похибки вимірювань і розраховуються константи моделі і максимальна СЄ суспензії.

2.5.1 Метод дослідження кінетики сорбції катіонів важких металів магнітоміченим біосорбентом

Для цих досліджень використані модельні розчини катіонів Cu^{2+} і Fe^{2+} , а також зразки СВ м. Славутич. В усіх дослідях початкова концентрація катіонів ВМ у розчинах контролювалась на спектрофотометрі і складала 5-150 мг/дм³. Вимірювання проводились до настання в системі рівноважного стану, який спостерігався протягом 10-15 хв після t_p при чому так, щоб відхилення між двома проміжками складала не більше 5%.

Готували водні розчини солей ВМ з концентрацією іонів Cu^{2+} або Fe^{2+} в діапазоні від 5-150 мг/дм³ та суспензію магнітомічених дріжджів *S. cerevisiae* з концентрацією $8 \cdot 10^6$ кл/дм³. Змішували 50 см³ розчину солі ВМ і 50 см³ суспензії магнітомічених *S. cerevisiae* в окремій ємності. рН у обох системах доводили до необхідного значення для експерименту в діапазоні 2,5-5,0 за допомогою 10% азотної кислоти.

Отриманий розчин переносили до реактора з механічним перемішуючим пристроєм. Конструкція перемішуючого пристрою дозволяла варіювати частоту обертання плавно в діапазоні 0-180 хв⁻¹. Коефіцієнт заповнення реактора 0,75. Пробу на визначення залишкової концентрації катіонів ВМ відбирали кожні 5 хв. Пробу фільтрували на паперових фільтрах для видалення відпрацьованої маси магнітоміченого біосорбенту. Далі в залежності від типу металу визначали концентрацію в розчині. При необхідності, а також у випадках малого об'єму

проби, її додатково розводили дистильованою водою. Вимірювання проводили так щоб останні 3 зразки, відібрані послідовно з постійними проміжками часу, мали відхилення не більше 5% від кінцевої проби. Таким чином визначався час настання в системі сорбційної рівноваги.

Далі експериментальні дані використані для побудови моделі кінетики сорбції псевдо-другого порядку згідно з формулою (1.12).

2.5.2 Метод побудови ізотерм сорбції

Форма ізотерми адсорбції на поверхні магнітоміченого біосорбенту залежить від багатьох параметрів: властивостей сорбенту і сорбату, взаємодії сорбент – сорбат, взаємодії клітин магнітоміченого біосорбенту між собою в розчині. В області малих концентрацій і відповідних їм малих заповнень поверхні взаємодія між функціональними групами магнітоміченого біосорбенту незначна і залежність $q = f(C)_T$ зводиться до простої форми, що називається законом Генрі [48]:

$$q = kc, \quad (2.11)$$

де k - адсорбційний коефіцієнт (або коефіцієнт Генрі), $\text{дм}^3/\text{мг}$;

c - концентрація сорбату в об'ємній фазі, $\text{мг}/\text{дм}^3$.

Коефіцієнт Генрі k є мірою інтенсивності адсорбції. Будь-яка теоретична ізотерма повинна (при малих заповненнях) гранично переходити в рівняння Генрі. В області середніх концентрацій залежність сорбції розчинених речовин від концентрації добре описується емпіричним рівнянням Фрейндліха (1.5).

Теорія Ленгмюра дає змогу врахувати найбільш сильні відхилення від закону Генрі, пов'язані з обмеженістю сорбційного об'єму або поверхні сорбенту. Обмеженість цього параметра приводить до сорбційного насичення поверхні сорбенту у міру збільшення концентрації сорбату на ній.

Швидкість адсорбції V_{adc} (тобто число молекул, сорбованих за одиницю часу) пропорційна тиску і числу вільних центрів на поверхні клітини. Якщо загальне питома число центрів зв'язування (еквівалентно до максимальної $СЄ$) –

q_{max} , а в процесі сорбції виявляється зайнятими q центрів (еквівалентно до СЄ в деякий момент часу), то [48]:

$$V_{adc} = k_{adc}c(q_{max} - q) . \quad (2.12)$$

Сорбція динамічно урівноважена процесом десорбції. Швидкість десорбції пропорційна числу сорбованих молекул. У разі рівноваги системи ці швидкості рівні [48]:

$$V_{adc} = V_{dec} \rightarrow k_{adc}c(q_{max} - q) = k_{dec}q . \quad (2.13)$$

Позначивши $k_{adc}/k_{dec} = b$ (b - константа сорбційної рівноваги) отримаємо (1.4)

$$q = q_{max}bc/(1+bc) .$$

Це і є рівняння ізотерми адсорбції Ленгмюра [48].

Ізотерму адсорбції Ленгмюра представлено на рисунку 2.3.

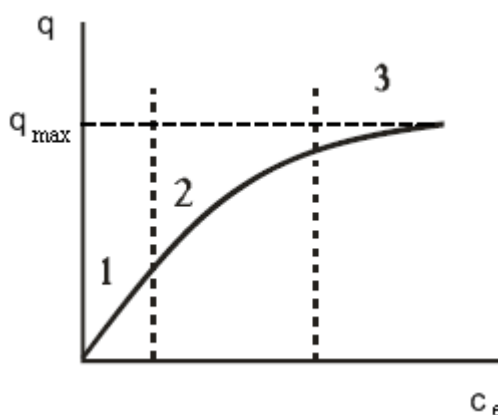


Рисунок 2.3 – Ізотерма адсорбції Ленгмюра [48]

Рівняння Ленгмюра містить два параметри, що характеризують адсорбцію. Це константа адсорбційної рівноваги b і величина граничної адсорбції, яка відповідає повному заповненню поверхні мономолекулярним шаром адсорбату q_{max} (цей параметр зазвичай називають ємність моношару).

В області малих заповнень рівняння Ленгмюра переходить в рівняння Генрі. За дуже високих концентрацій $bc \gg 1$ з рівняння Ленгмюра виходить, що $q = q_{max}$, тобто величина адсорбції перестає залежати від концентрації. Для визначення параметрів q_{max} і b рівняння Ленгмюра представляють у вигляді:

$$\frac{1}{q} = \frac{1}{q_{max}} + \frac{1}{q_{max}b} \cdot \frac{1}{c} \quad (2.14)$$

Тоді в координатах $[1/q; 1/c]$ ізотерма Ленгмюра у формі рівняння (2.14) має вигляд прямої. Експериментальні дані апроксимуються до прямої. Визначення параметрів ізотерми сорбції проводиться методом найменших квадратів.

Для побудови ізотерм сорбції катіонів ВМ визначали q_{max} і b . Для цього проводили серію дослідів з сорбції з різними співвідношеннями маси біосорбенту до маси ВМ. Тривалість біосорбції для кожного біосорбенту визначається згідно п. 2.4.2. Далі отримані експериментальні дані обробляли математично. З апроксимованого методом найменших квадратів графіку в координатах $[1/q; 1/c]$ отримували значення максимальної СЄ q_{max} і константи рівноваги b .

2.5.3 Визначення концентрації катіонів Cu^{2+} у розчині

Після проведення процесу біосорбції отриманий розчин фільтрували для видалення відпрацьованого біосорбенту. Для видалення не обробленої суспензії *S. cerevisiae* використовували паперові фільтри. У разі обробки дріжджів кислотами, лугами або іншими реактивами, які могли призвести до виділення в розчин компонентів клітини, суспензію центрифугували 2-10 хв при 2000-8000 xv^{-1} в залежності від припущення про масу виділених компонентів. Магнітомічений біосорбент видаляли за допомогою ВГМС. Для цього 10 cm^3 відфільтрованого розчину зливали в колбу ємністю 50 cm^3 . В колбу додавали 5 cm^3 розчину аміаку і доводили до мітки дистильованою водою. Отриманим розчином заповнювали скляні кювети. Визначення концентрації іонів Cu^{2+} проводили за кімнатної температури вимірюванням оптичної густини розчину комплексів $[Cu(NH_3)_4]^{2+}$ за довжини хвилі світла 590 нм у порівнянні з дистильованою водою за допомогою спектрофотометра СФ-46. За значенням оптичної густини визначали концентрацію Cu^{2+} згідно з градувальним графіком.

Побудова градувального графіку [115]. Для приготування еталонних розчинів в мірні колби ємністю 50 cm^3 вносили по 10 cm^3 води в кожну і стандартний розчин, який містить катіони Cu^{2+} (1 mg/dm^3) в кількості (cm^3): 1,0; 3,0; 5,0; 7,0; 9,0; 11,0; 13,0; 15,0; 25,0 відповідно і додавали 5 cm^3 розчину

гідроксиду амонію, а потім доводили об'єм водою до мітки. Вимірювання оптичної густини цих розчинів проводили за довжини хвилі світла $\lambda = 590$ нм з довжиною оптичного шляху $l = 50$ мм.

Виконання вимірювань. Для визначення Cu^{2+} в досліджуваному розчині з загального об'єму 50 см^3 беруть $10\text{-}20 \text{ см}^3$ цього розчину в залежності від вмісту міді в ньому, переносять в мірну колбу ємністю 50 см^3 , додають 5 см^3 розчину гідроксиду амонію і доводять об'єм розчину водою до мітки. Вимірюють оптичну густину і знаходять концентрацію Cu^{2+} згідно рівняння з градууювального графіку:

$$C(\text{Cu}^{2+}) = 222,2D + 0,017$$

2.5.4 Метод визначення концентрації катіонів Fe^{2+} у розчині

Для вимірювання вмісту заліза використовували методику [116]. Методика базується на утворенні червоного комплексу при взаємодії іонів Fe^{2+} з 1,10-фенантроліном $\text{C}_{12}\text{H}_8\text{N}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$, який характеризується максимумом світлопоглинання на довжині хвилі $\lambda = 510$ нм [116]. Лінійна залежність оптичної густини розчину від концентрації Fe^{2+} зберігається у широкому діапазоні від $0,05 \text{ г/дм}^3$ до $2,0 \text{ г/дм}^3$ для кювет з довжиною оптичного шляху 10 або 50 мм [116]. Коефіцієнт молярного поглинання комплексу становить $11 \cdot 10^3$ [116]. Якщо проба перед додаванням буфера дуже кисла, то після додавання буфера перевіряли рН і доводили рН розчину концентрованим розчином гідроксиду амонію до рН $4,0$.

Оскільки СВ містять як Fe^{2+} , так і Fe^{3+} , перед внесенням в розчин СВ фенантроліну проводили відновлення Fe^{3+} до Fe^{2+} додаванням гідроксиламіну NH_2OH . Вимірювання оптичної густини розчину проводили за довжини хвилі світла $\lambda = 510$ нм у кюветі товщиною 50 мм у порівнянні з дистильованою водою.

Побудова градууювального графіку. У 150 см^3 колби з термостійкого скла вносять $0,00$; $0,10$; $0,50$; $1,00$; $2,00$; $5,00$; $7,50$; $10,00 \text{ см}^3$ робочого стандартного (для градуювання) розчину заліза, додають до 40 см^3 дистильованої води та 1 см^3 10% -го розчину гідроксиламіну, доводять рН розчину до 2 (за індикаторним універсальним папером), додають краплями концентровану хлоридну кислоту.

Розчини кип'ятять до зменшення об'єму на 1/3. Після охолодження кількісно переносять розчини у мірні 50 см³ колби, додають по 2 см³ розчину 1,10-фенантроліну, 10 см³ ацетатно-амонійного буферу, доводять до позначки дистильованою водою і через 10-15 хв вимірюють оптичну густину при 510 нм, або з відповідним світлофільтром у кюветах 10 або 50 мм проти дистильованої води. При побудові графіка від виміряного значення оптичної густини розчину віднімають значення холостого розчину (цей розчин майже завжди слабо забарвлений).

Виконання вимірювань. Відбирають 50 см³ перемішаної або профільтрованої проби, що аналізують, або менший об'єм у залежності від припущення вмісту заліза. При необхідності проводять підготовку проб, доливають 1 см³ 10%-го розчину гідрохлориду гідроксиламіну і кип'ятять до зменшення об'єму приблизно на половину. Пробу охолоджують і, при необхідності, фільтрують у 50 см³ мірну колбу. Додають 10 см³ ацетатно-амонійного буферного розчину та 2 см³ розчину 1,10-фенантроліну і доводять до позначки дистильованою водою. Ретельно перемішують і залишають на 10-15 хв до повного розвитку забарвлення. Одночасно проводять холосте визначення.

Оптичну густину отриманого розчину вимірюють за довжини хвилі світла 510 нм, або зі світлофільтром у кюветі 10 або 50 мм проти дистильованої води.

Якщо проба перед додаванням буфера дуже кисла, то треба перевірити рН і при необхідності довести концентрованим гідроксидом амонію до рН 4,0.

Концентрацію Fe²⁺ знаходять згідно рівняння з градуовального графіку:

$$C(Fe^{2+}) = 3,33D + 0,198$$

2.6 Метод визначення магнітної сприйнятливості

Визначення магнітної сприйнятливості магнітомічених комплексів проводили радіотехнічним резонансним методом [117]. Сутність радіотехнічного резонансного методу полягає у знаходженні зсуву резонансної частоти LC-контур, що забезпечується зміною індуктивності при внесенні порошкового

зразку в соленоїд [117].

Індуктивність соленоїда визначається співвідношенням [117]:

$$L = k\mu\mu_0 N^2 \frac{S}{l}. \quad (2.15)$$

де μ_0 - магнітна постійна, що дорівнює $4\pi \cdot 10^{-7}$ Гн/м;

μ - магнітна проникність середовища в соленоїді, для повітря $\mu=1$;

N - число витків соленоїда, шт;

l - довжина соленоїда, м;

S - площа перетину соленоїда, м²;

k - коефіцієнт, який залежить від параметрів витка соленоїда.

При внесенні в соленоїд порошкового зразку, його індуктивність зміниться і дорівнюватиме [117]:

$$L_K = k\mu_K\mu_0 N^2 \frac{S}{l}. \quad (2.16)$$

Зміна індуктивності складе різницю між виразами (2.15) і (2.16) [117]:

$$\Delta L = L_K - L = k(\mu_K - 1)\mu_0 N^2 \frac{S}{l} = k\chi\mu_0 N^2 \frac{S}{l} \quad (2.17)$$

де χ - магнітна сприйнятливність порошкового зразка.

Резонансна частота LC-контурі пов'язана з індуктивністю соленоїда та ємністю конденсатора співвідношенням [117]:

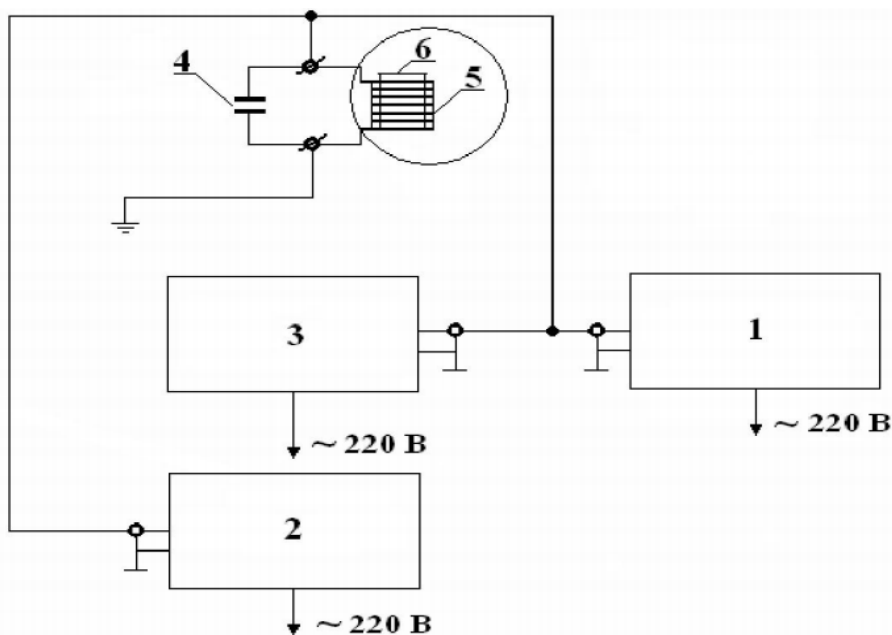
$$f = \frac{\omega}{2\pi} = \frac{1}{2\pi\sqrt{LC}}. \quad (2.18)$$

де ω – циклічна частота. Резонансна частота LC-контурі:

$$\omega_0 = \frac{1}{\sqrt{L_0 C}}. \quad (2.19)$$

Резонансна частота LC-контурі з порошковим зразком:

$$\omega_K = \frac{1}{\sqrt{L_K C}}. \quad (2.20)$$



1- осцилограф, 2 - електронний частотомір, 3 - вимірювач добротності, 4- конденсатор С, 5 - соленоїд L, 6- циліндричний контейнер для зразку
Рисунок 2.4 – Блок-схема установки вимірювання магнітної сприйнятливості

Зсув резонансної частоти при зміні індуктивності соленоїда при внесенні порошкового зразка [117] складає різницю між виразами (2.19) і (2.20):

$$|\Delta\omega| = |\omega - \omega_K| = \frac{1}{\sqrt{C}} \left(\frac{1}{\sqrt{L_K + \Delta L}} - \frac{1}{\sqrt{L_K}} \right) = \left| \frac{1}{\sqrt{L_K C}} \left(\left(1 + \frac{\Delta L}{L_K} \right)^{\frac{1}{2}} - 1 \right) \right| \quad (2.21)$$

При $\frac{\Delta L}{L_0} \ll 1$ отримаємо з рівняння (2.21):

$$|\Delta\omega| \approx \left| \omega_K \left(1 + \frac{\Delta L}{2L_K} - 1 \right) \right| = \omega_K \left| \frac{\Delta L}{2L_K} \right| = \frac{\omega_K \chi}{2} \quad (2.22)$$

Остаточно магнітна сприйнятливість порошку з виразу (2.22):

$$\chi = \frac{2\Delta\omega}{\omega_K} \Rightarrow \chi = \frac{2\Delta f}{f_K} \quad (2.23)$$

Формула (2.23) визначає ефективну магнітну сприйнятливості зразка через зміну резонансної частоти коливань LC-контур. Визначення магнітної сприйнятливості проводять на частотах 12-20 МГц з похибкою, що не перевищує 0,2 % [117].

2.7 Атомно-силова і магнітна силова мікроскопія магнітомічених комплексів

В процесі виконання роботи методами атомно-силової (АСМ) та магнітної силової мікроскопії (МСМ) досліджували локалізацію магнетиту в клітинній стінці дріжджів *S. cerevisiae* за допомогою скануючого зондового мікроскопу SOLVER PRO-M, в якому використовується двопробна напівконтактна методика вивчення зразка. Під час першого проходу магнітного зонда над поверхнею зразка (АСМ режим) отримується АСМ зображення рельєфу поверхні. Цей рельєф запам'ятовується, і під час другого проходу (в МСМ режимі) вимірюється зсув фази коливань кантилеверу, що характеризує силу магніто-дипольної взаємодії робочої зони магнітного зонда з магнетитом в складі досліджуваних клітин дріжджів *S. cerevisiae*, за постійної відстані між зондом та поверхнею зразка. Магнетит може представляти собою, зокрема, окремі наночастинки і/або їх кластери. Внаслідок обмеженості роздільної здатності скануючого зондового мікроскопу в МСМ режимі неможливо відрізнити окрему магнітну наночастинку від кластеру з декількох магнетитових наночастинок [110]. Це обумовлено тим, що характерний розмір магнітного відгуку в МСМ режимі, який відрізняється від фонового значення, складає величину порядку 10 нм, а мінімальний шаг сканування варіює в залежності від методу сканування в межах 6-12 нм [110]. Тому будемо називати кластером магнетитових наночастинок відокремлену локалізовану магніточутливу область на МСМ зображенні зразка з розмірами порядку 10 нм. Зазначений кластер може складатися з однієї, двох та більшої кількості магнетитових наночастинок.

На одержаному методом АСМ зображенні поверхні зразку наноманетиту (рис. 2.5) визначали розподіл розмірів частинок наноманетиту. Як видно, ефективний розмір частинок коливався у межах від 5 нм до 20 нм, характерний розмір наночастинок знаходиться в межах від 7 нм до 9 нм.



Рисунок 2.5 – Переріз АСМ зображення частинок нанорозмірного Fe_3O_4 на предметному склі.

2.8 Методи дослідження клітинної стінки у процесі біосорбції

Дослідження сорбції катіонів ВМ КС дріжджів передбачають виявлення механізмів і функціональних груп, які приймають участь в цьому процесі. Так, для нативних дріжджів відомі методи блокування функціональних груп описані в роботах [19, 71, 118-120]. Для з'ясування внеску окремих функціональних в СЄ магнітомічених дріжджів роблять наступним чином. Функціональні групи блокуються і не приймають участі в процесі біосорбції і таким чином по величині зменшення СЄ судять про їх внесок в максимальну СЄ. Для з'ясування внеску окремих компонентів КС і представлених в них функціональних групах проводиться попередня екстракція і визначення внеску цих компонентів в максимальну СЄ в перерахунку на абсолютно сухої речовини (АСР) дріжджів. Обробку біомаси магнітомічених дріжджів і вилучених компонентів з КС представлено в табл. 2.1.

Таблиця 2.1 – Схема зразків експерименту [14]

№ зразку	Вид модифікації					
	Прикріплення магнітних міток	Обробка суспензії		Екстракт з біомаси	Блокування функціональних груп	
		Луг	Ацетон		-NH ₂	-COOH
1	×	×	×	—	×	×
2	*	×	×	—	×	×
3	×	*	×	×	×	×
4	*	*	×	×	×	×
5	×	×	*	×	×	×
6	*	×	*	×	×	×
7	×	×	×	—	*	×
8	*	×	×	—	*	×
9	×	×	×	—	×	*
10	*	×	×	—	×	*
11	×	*	×	*	*	×
12	*	*	×	*	*	×
13	×	*	×	*	×	*
14	*	*	×	*	×	*
15	×	×	*	*	×	*
16	*	×	*	*	×	*

Примітка: «*» позначено використану модифікацію, «×» – обробка не виконувалась, «—» – не можливо отримати

2.8.1 Метод екстракції білків і ліпідів з клітинної стінки

Половину за об'ємом суспензій зразків 1 і 2 направляли на обробку лугом (зразки 3 і 4 відповідно), а другу половину на обробку ацетоном (зразки 5 і 6 відповідно).

Обробку лугом проводили наступним чином [118]: доводили суспензію біосорбенту 0,1 н. NaOH до рН 10 і перемішували 2 год з одночасним підігрівом до 40 °С. Отриманий розчин залишали на добу при 4 °С, а потім центрифугували при 6000 хв⁻¹ 10 хв. Супернатант зливали окремо і вирівнювали рН 5,5. Декантат відмивали до рН 7 і направляли на біосорбцію катіонів Cu²⁺, або на подальші модифікації функціональних груп.

Екстракцію ліпідів проводили за методом [119] з розрахунку 75 см³ ацетону на 1 г сухої маси дріжджів, перемішували 4 год з одночасним підігрівом до 40 °С.

Отриманий розчин залишали на добу при 4 °С, а потім центрифугували при 6000 хв⁻¹ 10 хв. Як і в попередньому випадку, супернатант і декантат досліджували окремо.

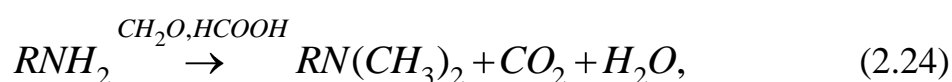
Другу половину за об'ємом суспензій зразків 1,2 і екстрактів зразків 3–6 знову розділено на 2 частини і направлено на хімічну обробку. Одна частина модифікована формальдегідом з мурашиною кислотою (зразки 7, 8 і 11, 12), а друга – метанолом (зразки 9, 10 і 13–16). Для ліпідів зразків 5 і 6 метилювання аміногруп не виконувалось.

2.8.2 Блокування сорбції функціональними групами клітинної стінки

Метилювання аміногруп. Обробка формаліном (формальдегідом) має на меті денатурацію білків і блокування аміногруп. Обробку проводили за методом [9]. Для цього 5 г дріжджів розводили в 100 см³ формальдегіду (НСНО), а потім в 200 см³ мурашиної кислоти (НСООН). Отриману суміш перемішували 6 год при 150 хв⁻¹ з температурою 40 °С. Отриману біомасу центрифугували при 2000 хв⁻¹ 10 хв, декантат відмито дистильованою водою з 0,2 М карбонатом натрію і використано для біосорбції.

Естерифікація карбоксильних груп. Обробку проводили за методом [120]. Для цього нативні або магнітомічені дріжджі розбавляли в 300 см³ метанолу. До суспензії додавали 5 см³ соляної кислоти в якості каталізатору. Розчин перемішували 6 год при 150 хв⁻¹. Отриману суміш центрифугували при 2000 хв⁻¹ 10 хв, декантат відмивали дистильованою водою з 0,2 М карбонатом натрію.

З літературних джерел [40], відомо, що серед усіх функціональних груп, представлених компонентами КС, для біосорбції катіонів металів найбільш важливими є карбоксильні –СООН і аміногрупи –NH₂. Так метилювання аміногруп формальдегідом і мурашиною кислотою відбувається за реакцією Ешвайлера-Кларка:



Естерифікації карбоксильних груп відбувається за реакцією:



2.9 Математичні методи обробки експериментальних даних

Біосорбція катіонів Cu^{2+} магнітоміченим біосорбентом виготовленим методом багатовихрового МГД перемішування потребує аналізу значимості впливу факторів на перебіг процесу вилучення катіонів ВМ. Тому перед моделюванням процесу проведено дисперсійний аналіз [121] і обґрунтування впливу факторів, таких як напруженість зовнішнього магнітного поля, рН, концентрація біосорбенту, початкова концентрація катіонів Cu^{2+} .

Побудова моделі біосорбції катіонів Cu^{2+} магнітоміченими дріжджами виготовленими за допомогою багатовихрового МГД перемішування і моделі взаємозв'язку електрокінетичного потенціалу з максимальною СЄ виконується за допомогою методів планування активного експерименту [121].

Біосорбція катіонів Cu^{2+} магнітоміченими дріжджами за допомогою багатовихрового МГД перемішування досліджувалась згідно плану з $p=4$ факторів на $k=5$ рівнях за допомогою методу дисперсійного аналізу. План побудовано згідно схеми греко-латинського квадрату 5×5 . Матриця планування представлена в табл. 2.2. Експеримент виконано без повторних серій.

Алгоритм встановлення значимості факторів [121].

1. Підсумки для i -ого рівня $i=1..k$ кожного фактору:

$$A_i = \sum_{u=1}^k y_{k(u-1)+i} ; B_i = \sum_{u=1}^k y_{u+k(i-1)} ; i=1..k. \quad (2.26)$$

Підсумки C_i і D_i $i=1..k$ розраховуються за сумою 5 результатів, де фактор знаходиться на відповідному рівні.

2. Сума квадратів всіх результатів експериментів:

$$SS_1 = \sum_{u=1}^{k^2} y_u^2. \quad (2.27)$$

Таблиця 2.2 – Схема латинського квадрату

Схема розташування рівнів факторів		<i>A</i>				
		<i>a</i> ₁	<i>a</i> ₂	<i>a</i> ₃	<i>a</i> ₄	<i>a</i> ₅
<i>B</i>	<i>b</i> ₁	<i>c</i> ₁ , <i>d</i> ₁ , <i>y</i> ₁	<i>c</i> ₂ , <i>d</i> ₂ , <i>y</i> ₂	<i>c</i> ₃ , <i>d</i> ₃ , <i>y</i> ₃	<i>c</i> ₄ , <i>d</i> ₄ , <i>y</i> ₄	<i>c</i> ₅ , <i>d</i> ₅ , <i>y</i> ₅
	<i>b</i> ₂	<i>c</i> ₃ , <i>d</i> ₄ , <i>y</i> ₆	<i>c</i> ₄ , <i>d</i> ₅ , <i>y</i> ₇	<i>c</i> ₅ , <i>d</i> ₁ , <i>y</i> ₈	<i>c</i> ₁ , <i>d</i> ₂ , <i>y</i> ₉	<i>c</i> ₂ , <i>d</i> ₃ , <i>y</i> ₁₀
	<i>b</i> ₃	<i>c</i> ₅ , <i>d</i> ₂ , <i>y</i> ₁₁	<i>c</i> ₁ , <i>d</i> ₃ , <i>y</i> ₁₂	<i>c</i> ₂ , <i>d</i> ₄ , <i>y</i> ₁₃	<i>c</i> ₃ , <i>d</i> ₅ , <i>y</i> ₁₄	<i>c</i> ₄ , <i>d</i> ₁ , <i>y</i> ₁₅
	<i>b</i> ₄	<i>c</i> ₂ , <i>d</i> ₅ , <i>y</i> ₁₆	<i>c</i> ₃ , <i>d</i> ₁ , <i>y</i> ₁₇	<i>c</i> ₄ , <i>d</i> ₂ , <i>y</i> ₁₈	<i>c</i> ₅ , <i>d</i> ₃ , <i>y</i> ₁₉	<i>c</i> ₁ , <i>d</i> ₄ , <i>y</i> ₂₀
	<i>b</i> ₅	<i>c</i> ₄ , <i>d</i> ₃ , <i>y</i> ₂₁	<i>c</i> ₅ , <i>d</i> ₄ , <i>y</i> ₂₂	<i>c</i> ₁ , <i>d</i> ₅ , <i>y</i> ₂₃	<i>c</i> ₂ , <i>d</i> ₁ , <i>y</i> ₂₄	<i>c</i> ₃ , <i>d</i> ₂ , <i>y</i> ₂₅

Примітка: *y* – результат експерименту, *a* – рівні фактора *A*, *b* – рівні фактора *B*, *c* – рівні фактора *C*, *d* – рівні фактора *D*.

3. Суми квадратів результатів експериментів кожного фактору на всіх рівнях:

$$SS_2 = \sum_{u=1}^k A_u^2; \quad SS_3 = \sum_{u=1}^k B_u^2; \quad SS_4 = \sum_{u=1}^k C_u^2; \quad SS_5 = \sum_{u=1}^k D_u^2 \quad (2.28)$$

4. Квадрат загального підсумку результатів експериментів:

$$SS_6 = \frac{1}{k^2} \left(\sum_{u=1}^k A_u \right)^2 = \frac{1}{k^2} \left(\sum_{u=1}^k B_u \right)^2 = \frac{1}{k^2} \left(\sum_{u=1}^k C_u \right)^2 = \frac{1}{k^2} \left(\sum_{u=1}^k D_u \right)^2. \quad (2.29)$$

5. Сума квадратів кожного фактору:

$$SS_{\Phi} = SS_i - SS_6 \quad i = 2, \dots, 5. \quad (2.30)$$

6. Загальна сума квадратів:

$$SS_{3AG} = SS_1 - SS_6. \quad (2.31)$$

7. Залишкова сума квадратів:

$$SS_{3AL} = SS_{3AG} - SS_A - SS_B - SS_C - SS_D = S_1 - SS_2 - SS_3 - SS_4 - SS_5 + 3SS_6. \quad (2.32)$$

8. Дисперсія для кожного фактору:

$$s_{\Phi}^2 = \frac{SS_{\Phi}}{k-1}. \quad (2.33)$$

9. Дисперсія похибки вимірювань:

$$s_{\text{Пох}}^2 = \frac{SS_{\text{ЗАГ}}}{(k-1)(k-2)}. \quad (2.34)$$

10. Перевірка за критерієм Фішера F_T нульової гіпотези про значимість фактору. Якщо виконується умова:

$$\frac{s_{\Phi}^2}{s_{\text{Пох}}^2} < F_T(f_1, f_2, p), \quad (2.35)$$

де p – рівень значущості ($p=0,05$);

f_1 и f_2 – числа ступенів вільності, $f_1=n-1$, $f_2=(n-1)(n-2)$.

то вплив фактору немає підстав вважати значимим.

Після дисперсійного аналізу вплив кожного фактору на процес біосорбції досліджувався окремо або в залежності від зміни одного з факторів.

Взаємозв'язок електрокінетичного потенціалу з максимальною СЕ досліджувався методом регресійного аналізу згідно центрального композиційного ортогонального плану для $r=3$ факторів на $k=2$ рівнях. Матриця планування експерименту представлена в табл. 2.3. Кількість серій в експерименті попередньо обрано $m=4$. Така кількість забезпечує достатній рівень відтворюваності результатів, за необхідності можна збільшити кількість серій. Зоряне плече $\alpha=1,414$ для $r=3$ факторів і кількості дослідів в центрі плану $n_0=4$.

Розрахунок відповідних коефіцієнтів рівнянь регресії, завдяки властивості ортогональності плану експерименту для рівняння другого порядку виду:

$$y = b_0' + b_1x_1 + b_2x_2 + b_3x_3 + b_{12}x_1x_2 + b_{13}x_1x_3 + b_{23}x_2x_3 + b_{11}x_1^2 + b_{22}x_2^2 + b_{33}x_3^2, \quad (2.36)$$

розраховуються за формулою:

$$b_{\text{інд}} = \frac{\sum_{i=1}^N x_{\text{інд } i} y_i}{\sum_{i=1}^N x_{\text{інд } i}^2}. \quad (2.37)$$

Дисперсія коефіцієнтів:

$$s_{b_{\text{інд}}}^2 = s_{\text{відтв}}^2 / \sum_{i=1}^N x_{\text{інд } i}^2. \quad (2.38)$$

Оскільки в ортогональній матриці використовуються перетворені координати для квадратичних ефектів, то вільний член рівняння b_0 розраховується наступним

ЧИНОМ:

$$b_0 = b_0^I - b_{11} \overline{x_1^2} - b_{22} \overline{x_2^2} - b_{33} \overline{x_3^2}, \quad (2.39)$$

а також перераховується його дисперсія.

Таблиця 2.3 – Планування експерименту

№	x_0	x_1	x_2	x_3	Серії експериментів				Y_{cp}
					I	II	III	IV	
1	1	1	1	1	Y_{11}	Y_{21}	Y_{31}	Y_{41}	Y_1
2	1	-1	1	1	Y_{12}	Y_{22}	Y_{32}	Y_{42}	Y_2
3	1	1	-1	1	Y_{13}	Y_{23}	Y_{33}	Y_{43}	Y_3
4	1	-1	-1	1	Y_{14}	Y_{24}	Y_{34}	Y_{44}	Y_4
5	1	1	1	-1	Y_{15}	Y_{25}	Y_{35}	Y_{45}	Y_5
6	1	-1	1	-1	Y_{16}	Y_{26}	Y_{36}	Y_{46}	Y_6
7	1	1	-1	-1	Y_{17}	Y_{27}	Y_{37}	Y_{47}	Y_7
8	1	-1	-1	-1	Y_{18}	Y_{28}	Y_{38}	Y_{48}	Y_8
9	1	0	0	0	Y_{19}	Y_{29}	Y_{39}	Y_{49}	Y_9
10	1	0	0	0	Y_{110}	Y_{210}	Y_{310}	Y_{410}	Y_{10}
11	1	0	0	0	Y_{111}	Y_{211}	Y_{311}	Y_{411}	Y_{11}
12	1	0	0	0	Y_{112}	Y_{212}	Y_{312}	Y_{412}	Y_{12}
13	1	1,414	0	0	Y_{113}	Y_{213}	Y_{313}	Y_{413}	Y_{13}
14	1	-1,414	0	0	Y_{114}	Y_{214}	Y_{314}	Y_{414}	Y_{14}
15	1	0	1,414	0	Y_{115}	Y_{215}	Y_{315}	Y_{415}	Y_{15}
16	1	0	-1,414	0	Y_{116}	Y_{216}	Y_{316}	Y_{416}	Y_{16}
17	1	0	0	1,414	Y_{117}	Y_{217}	Y_{317}	Y_{417}	Y_{17}
18	1	0	0	-1,414	Y_{118}	Y_{218}	Y_{318}	Y_{418}	Y_{18}

Адекватність рівняння і його коефіцієнтів перевіряються за критерієм Фішера, а значимість коефіцієнтів перевіряють за критерієм Стьюдента [121].

Висновки до розділу 2

В другому розділі обрані і розглянуті матеріали, методи і методики проведення експериментальних досліджень, методи математичного моделювання і розрахунку похибок вимірювань.

Для вирішення поставлених задач використано такі методи досліджень: фізичні (гравіметричний метод визначення ваги сухого залишку, аналітичний електрофорез, спектрофотометрія, визначення магнітної сприйнятливості радіотехнічним резонансним методом, скануюча зондова мікроскопія: атомно-силова і магнітно-силова), фізико-хімічні (метод багатовихрового МГД перемішування), хімічні (метилування, естерифікація функціональних груп, екстракція ліпідів і омилення білків КС), математичні (модель моношарової сорбції Ленгмюра, регресійний аналіз, статистична обробка результатів). Графічне відображення результатів експериментів та їх обробку виконано за допомогою пакету програм MS Office (програмне забезпечення – MS Excel), Wolfram Mathematica 7 і OriginLab. Кресленики, тривимірна візуалізація експериментальної установки виконані з використанням пакету прикладних програм «Аскон Компас».

РОЗДІЛ 3. ЕЛЕКТРОКІНЕТИЧНИЙ ПОТЕНЦІАЛ МАГНІТОМІЧЕНОГО БІОСОРБЕНТУ

3.1 Удосконалений метод багатовихрового МГД перемішування для виготовлення магнітоміченого біосорбенту

Відомі способи отримання магнітоміченого біосорбенту на основі дріжджів *S. cerevisiae* з ковалентно- і нековалентно зв'язаним магнетитом. В роботі [4] прикріплення магнітних міток проводили в високошвидкісному гомогенізаторі механічним перемішуванням. Недоліком використання механічного перемішування є те, що отримані магнітомічені біосорбенти як з ковалентно зв'язаним так і нековалентно зв'язаним магнетитом мали меншу СЄ по катіонах Cu^{2+} у порівнянні з нативною біомасою. В роботі [122] досліджували дію магнітного поля на суспензії дріжджів *S. cerevisiae* під час МГД перемішування з напруженістю 240 кА/м. Недоліком такого методу магнітомічення є те, що суспензія дріжджів тривалий час піддається впливу магнітного поля. Також недоліком є те, що під дією магнітного поля відбувається прискорена корозія металеві стружки, яка має значну площу поверхні. Тому виникає необхідність вдосконалення методу МГД перемішування для більш м'якої обробки біомаси і зменшення площі поверхні матриці високоградієнтної магнітної насадки. З цією метою ВГФН для багатовихрового МГД перемішування замінено зі стружки на систему співвісних сталевих циліндрів. Проведені дослідження показали, що магнітомічений біосорбент на основі *S. cerevisiae*, отриманий удосконаленим багатовихровим МГД перемішуванням, має СЄ не меншу ніж не магнітомічений біосорбент [123].

Дослідження магнітоміченого біосорбенту розпочато з виявлення факторів, які впливають на СЄ магнітомічених дріжджів під час біосорбції.

Вихідна величина – СЄ магнітомічених дріжджів, приведена до маси АСР біосорбенту. Масу АСР визначено шляхом висушування біомаси магнітомічених дріжджів до постійної ваги згідно ДСТУ 8552:2015 при 105 °С. Встановлено, що масова частка сухих речовин в магнітоміченому біосорбенті – 26,1%.

Експерименти з біосорбції проведено з механічним перемішуванням сорбційної системи з кутовою швидкістю 180 хв^{-1} .

Проведено дисперсійний аналіз згідно п. 2.9 впливу на біосорбцію магнітоміченими дріжджами таких факторів, як:

- 1) Фактор А – рН на 5 рівнях: {2,5; 3,25; 4,0; 4,75; 5,5};
- 2) Фактор В – концентрація магнітоміченого біосорбенту C_{op} в мг АСР/дм³ на 5 рівнях: {50; 160; 275; 390; 500};
- 3) Фактор С – концентрація катіонів Cu^{2+} C_{Cu} в мг/дм³ на 5 рівнях: {50; 160; 275; 390; 500};
- 4) Фактор D – напруженість зовнішнього магнітного поля H_0 в кА/м на 5 рівнях: {200; 220; 240; 260; 280}. Результати представлені в таблиці 3.1.

Таблиця 3.1 – Результати експериментів з біосорбції

		A				
		$a_1=2,5$	$a_2=3,25$	$a_3=4,0$	$a_4=4,75$	$a_5=5,5$
B, мг/дм ³	$b_1=50$	2,324	0,423	0,452	20,947	26,070
	$b_2=160$	4,763	6,724	0,696	0,076	2,815
	$b_3=275$	5,189	0,504	1,595	2,846	4,023
	$b_4=390$	1,132	1,877	2,810	3,647	10,260
	$b_5=500$	2,152	2,829	0,198	0,877	1,441

Аналіз розрахунків наведено в таблиці 3.2. В програмі MS Excel розраховано значення F-критерія $F_{0,95}(4;12)=3,259$. Як видно усі 4 фактори є значимими, оскільки для них не виконується нерівність (2.35) і всі 4 співвідношення дисперсій більші за теоретичне значення 3,259. Тобто при моделюванні біосорбції катіонів Cu^{2+} магнітоміченими дріжджами виготовленими за допомогою багатовихрового МГД перемішування необхідно враховувати рН середовища, концентрацію біосорбенту, концентрацію катіонів Cu^{2+} і напруженість зовнішнього магнітного поля H_0 у процесі багатовихрового МГД перемішування.

Таблиця 3.2 – Результати розрахунків

Фактор А		Фактор В		Фактор С		Фактор D	
Сума підсумків	SS_2	Сума підсумків	SS_3	Сума підсумків	SS_4	Сума підсумків	SS_5
15,560	644,79	50,215	678,9	13,362	635,09	9,796	656,97
12,357	SS_A	15,074	SS_B	6,841	SS_C	9,939	SS_D
5,751	189,651	14,157	223,763	11,380	179,953	9,570	201,831
28,393	s_A^2	19,726	s_B^2	36,655	s_C^2	40,394	s_D^2
44,608	47,413	7,497	55,941	38,432	44,988	36,970	50,458
$s_A^2/s_{\text{Пох}}^2$	3,769	$s_B^2/s_{\text{Пох}}^2$	4,447	$s_C^2/s_{\text{Пох}}^2$	3,576	$s_D^2/s_{\text{Пох}}^2$	4,011

Проведено дослідження з багатовихрового МГД перемішування дріжджів і нанорозмірного магнетиту з наступною сорбцією катіонів Cu^{2+} в електрохімічній комірці з орієнтацією сталевих циліндрів паралельно і перпендикулярно до напрямку зовнішнього магнітного поля. Результати представлені на рис. 3.1. При перпендикулярній орієнтації вісей елементів феромагнітної насадки до напрямку зовнішнього магнітного поля процес менш ефективний ($C_k=1,0-5,0 \text{ мг/дм}^3$), ніж при паралельній орієнтації ($C_k < 1,0 \text{ мг/дм}^3$).

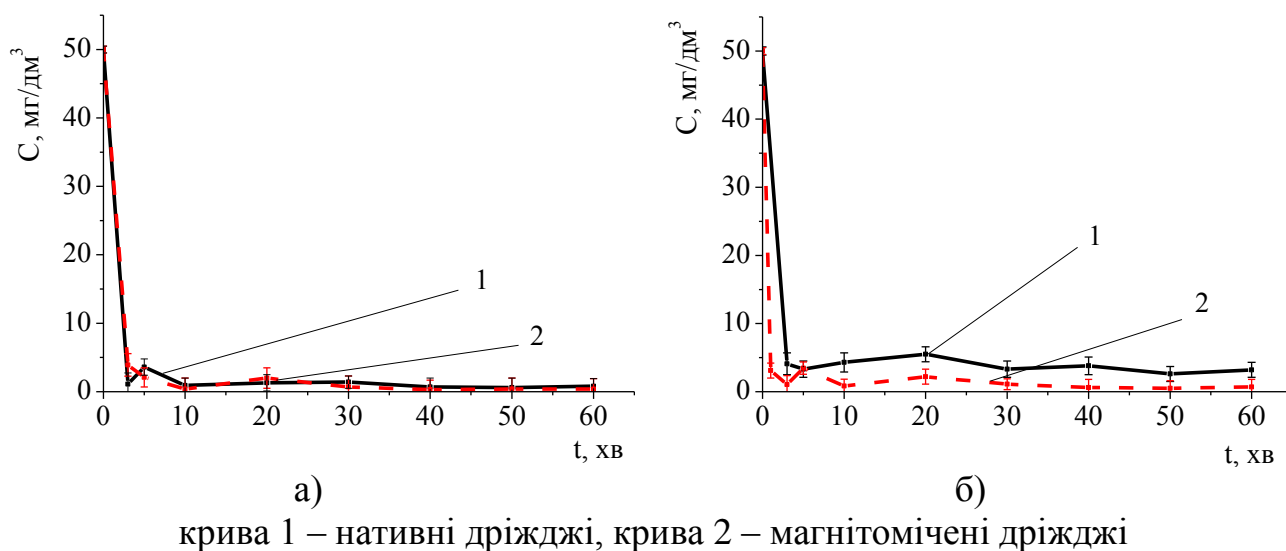
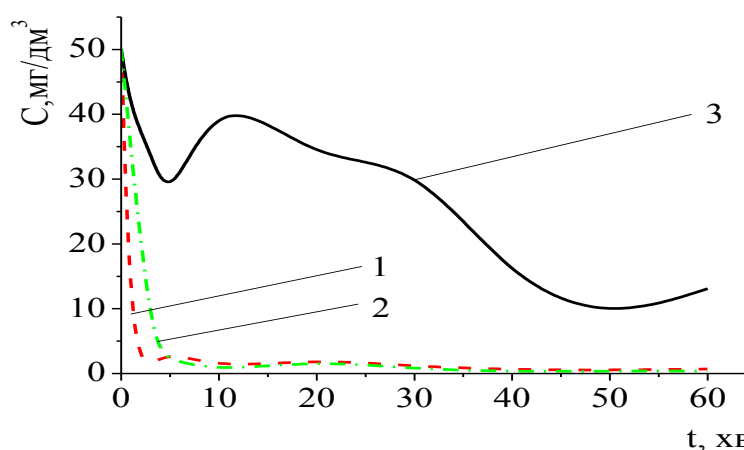


Рисунок 3.1 – Кінетика сорбції катіонів Cu^{2+} біомасою дріжджів у випадку багатовихрового МГД перемішування при різних орієнтаціях ВГФН відносно МП ($p \leq 0,05$) [8]: а) паралельній, б) перпендикулярній

Проведено порівняння магнітомічених біосорбентів, отриманих багатовихровим МГД 18 хв^{-1} [122, 124] і механічним перемішуванням 180 хв^{-1} дріжджів і нанорозмірного магнетиту. Результати представлені на рис. 3.2.

Наномагнетит, прикріплений до дріжджових клітин при механічному перемішуванні, зменшує поверхню масообміну, але дає можливість вилучати дріжджі в швидкісному режимі з використанням ВГМС [8]. Багатовихрове МГД перемішування значно інтенсифікує процес біосорбції в порівнянні з механічним перемішуванням.

Процес десорбції практично відсутній при використанні багатовихрового МГД перемішування як магнітних міток з дріжджами, так і комплексу «магнітні мітки – дріжджова клітина» з іонами Cu^{2+} [8].



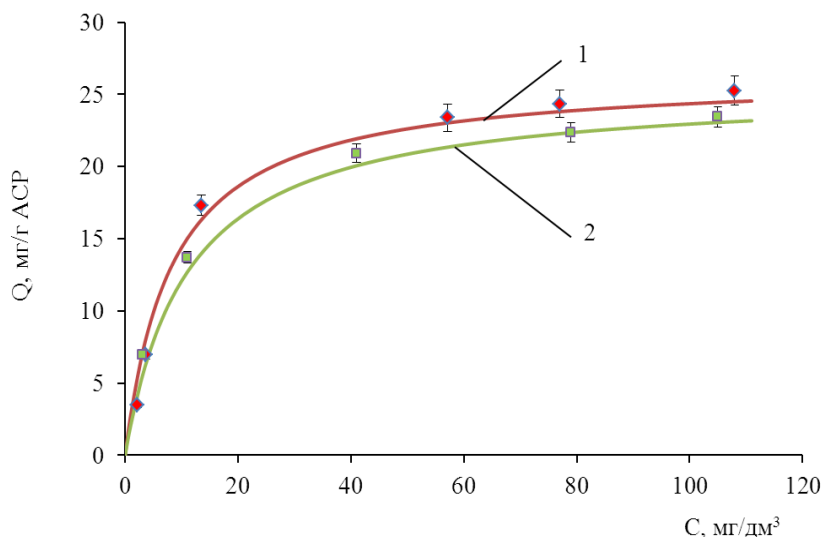
крива 1 – насадка орієнтована перпендикулярно магнітному полю, крива 2 – насадка орієнтована паралельно магнітному полю, крива 3 – механічне перемішування

Рисунок 3.2 – Кінетика сорбції Cu^{2+} в розчині комплексами «дріжджова клітина-магнітні мітки» ($p \leq 0,05$) [8]

У разі механічного перемішування спостерігається швидке зменшення концентрації Cu^{2+} за перші 5 хв з наступним нерівноважним станом, який спостерігається до 60 хв експерименту.

У разі паралельної орієнтації вісей елементів феромагнітної насадки до напрямку зовнішнього магнітного поля процес біосорбції є більш ефективним, ніж при перпендикулярній орієнтації [8].

Порівняно ізотерми сорбції (з інтенсифікацією механічним перемішуванням 180 хв^{-1}) катіонів Cu^{2+} магнітоміченими біосорбентами, отриманими окремо методами механічного (180 хв^{-1}) і багатовихрового МГД (18 хв^{-1}) перемішування суспензій дріжджів і магнітних міток, результати представлено на рис. 3.3.



1 – багатовихрове МГД перемішування, 2 – механічне перемішування

Рисунок 3.3 – Ізотерми сорбції з модельних розчинів іонів Cu^{2+} магнітоміченими біосорбентами у разі різних методів магнітомічення ($p \leq 0,05$)

Максимальна СЄ згідно моделі Ленгмюра по катіонах Cu^{2+} магнітоміченого біосорбенту у разі прикріплення 1 % магнітних нанорозмірних міток Fe_3O_4 до дріжджів методом багатовихрового МГД перемішування більша порівняно з СЄ магнітоміченого біосорбенту, отриманого механічним перемішуванням суспензій, і складають $25,5 \pm 0,5 \text{ мг/г АСР}$ і $24,6 \pm 0,38 \text{ мг/г АСР}$, відповідно.

Багатовихрове МГД перемішування як для біосорбції, так і для магнітомічення дріжджів нанорозмірним магнетитом більш ефективно у випадку орієнтації сталевих циліндрів паралельно зовнішньому магнітному полю установки.

3.2 Електрофоретична рухливість магнітомічених дріжджів *S. cerevisiae*

Наявність поверхневого заряду клітин у дріжджів обумовлює здатність зв'язувати катіони ВМ, а також взаємодіяти з магнітною рідиною. Як вже

ззначалось для магнітної рідини характерно те, що окремі частинки наномагнетиту (нанорозмірні магнітні мітки) несуть на своїй поверхні розподілений електричний заряд, який змінює своє значення в залежності від того, в якому середовищі знаходяться наномітки: в лужному – негативний, а в кислому – позитивний [18]. При багатовихровому МГД перемішуванні (при рН 2,5-5,0 магнетит позитивно заряджений, а клітини дріжджів – негативно) створюються магнітомічені комплекси «дріжджова клітина-магнітні мітки», які після біосорбції можуть бути ефективно видалені за допомогою магнітної сепарації. Приєднання магнітних міток КС відбувається з блокуванням тих самих функціональних груп, які беруть участь в біосорбції ВМ. Тому виникає необхідність визначити ζ -потенціал КС дріжджів, а також виявити вплив приєднаних магнітних наноміток на СС магнітомічених комплексів шляхом вимірювання ЕР.

Задачею цього експериментального дослідження є визначення ЕР клітин дріжджів *S. cerevisiae* нативних і модифікованих шляхом прикріплення магнітних міток при різних методах перемішування дріжджової суспензії з магнітною рідиною, а також після процесу біосорбції катіонів Cu^{2+} . Кількість магнетиту, що додавався до дріжджової суспензії, обмежена значенням, при якому клітини з механічно прикріпленими магнітними мітками втрачають рухливість в електричному полі, тобто, при прикладенні електричного поля клітини не рухаються (співвідношення маси магнітних міток до дріжджів $m_m/m_{dp} = 10\%$). Процес прикріплення міток відбувався різними методами перемішування магнітної рідини з розчином дріжджів: механічним за допомогою механічного перемішуючого пристрою 180 хв^{-1} і багатовихровим МГД в кюветі з насадкою, розміщеною в робочому зазорі електромагніту $15-18 \text{ хв}^{-1}$. Методи перемішування ідентичні до описаних в [9].

Заряджені групи можуть зв'язуватися або від'єднуватися в залежності від зміни величини рН або іонної сили розчину, а також в залежності від наближення зарядженої поверхні або іншої клітини. Тому важливим етапом є підбір електроліту, який не буде вносити суттєвої похибки до експериментів. Такими

електролітами є буферні розчини або розчини з великим значенням коефіцієнту розведення. Схема зразків представлена в табл. 3.3. Вимірювання ЕР проводились при температурі 20 °С.

Таблиця 3.3 – Схема отримання зразків для дослідження рухливості клітин

Назва зразка	Механічне перемішування 180 хв ⁻¹ з відношенням m_m/m_{op}		Багатовихрове МГД перемішування 15-18 хв ⁻¹ з відношенням $m_m/m_{op} = 1:100$
	1:100	1:50	
Нативні дріжджі	–	–	–
Зразок 2	×	–	–
Зразок 3	–	×	–
Зразок 4	–	–	×

Примітка: «×» – виконується модифікація, «–» – не виконується модифікація

На рис. 3.4 представлено залежність ЕР нативних клітин дріжджів від рН. Необроблені клітини дріжджів мають максимальне значення ЕР $-4,25 \cdot 10^{-8} \text{ м}^2/\text{Вс}$ при значеннях рН > 7 і нульову ЕР між значеннями рН 2,0-3,0.

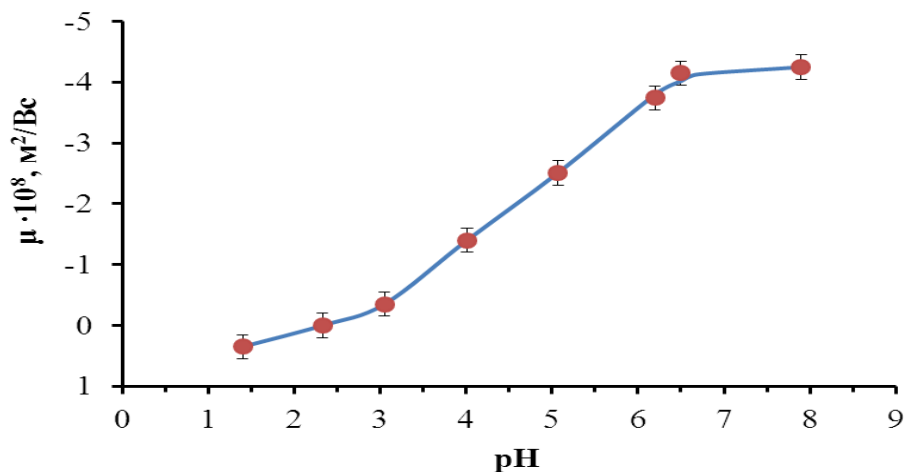
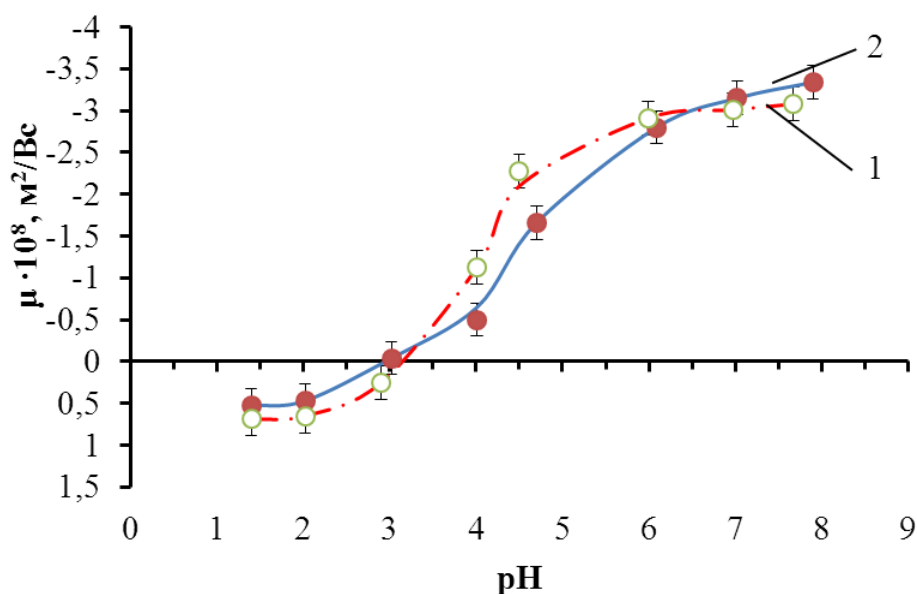


Рисунок 3.4 – Електрофоретична рухливість клітин дріжджів в залежності від рН системи (зразок – нативні дріжджі, $p \leq 0,05$)

На рис. 3.5 представлена ЕР магнітомічених клітин дріжджів в залежності від рН, виготовлених у разі механічного перемішування (зразок 3) і за допомогою багатовихрового МГД перемішування (зразок 4). ЕР клітин у разі використання

механічного перемішування не відрізняється в межах похибки від ЕР при багатовихровому МГД перемішуванні: у зразку 3 – $(-3,34 \pm 0,2) \cdot 10^{-8} \text{ м}^2/\text{Вс}$ і у зразку 4 – $(-3,08 \pm 0,2) \cdot 10^{-8} \text{ м}^2/\text{Вс}$.



крива 1 – зразок 4 (багатовихрове МГД), крива 2 – зразок 3 (механічне)

Рисунок 3.5 – Електрофоретична рухливість магнітомічених клітин дріжджів, виготовлених різними методами перемішування, в залежності від рН ($p \leq 0,05$)

Якщо порівняти ЕР зразків 3 і 4 при значенні рН 5.5, тобто оптимальному рН для біосорбції Cu^{2+} , то можна побачити, що найбільші по модулю значення належать зразку 4. Отже магнітомічений методом багатовихрового МГД перемішування біосорбент має найбільшу кількість функціональних груп, а тому має кращі сорбційні характеристики у порівнянні з іншими зразками дріжджів при рН 4,0-6,0, що підтверджує результати роботи [9]. З точки зору процесів, які мають місце у разі прикріплення магнітних міток в першу чергу маємо справу з осадженням наномагнетиту на поверхні КС, а у разі вилучення іонів ВМ – адсорбцією на поверхні КС іонів Cu^{2+} . Сорбція і десорбція іонів Cu^{2+} магнітоміченими клітинами дріжджів представлена в табл. 3.4. Для зручності інтерпретації дослідних результатів в табл. 3.4 подано дані вимірювань ЕР після відповідних видів обробки, описаних у матеріалах і методах. Результати досліджень показали, що ЕР магнітомічених клітин зменшується при збільшенні

відносної кількості магнетиту на поверхні клітини.

Таблиця 3.4 – Електрофоретична рухливість клітин дріжджів

Стан біосорбенту	$\mu, \text{ м}^2/\text{Вс } 10^8$		
	Відносна маса міток, $m_M/m_{\text{др}}$		
	0% (нативні дріжджі)	1% (зразок 2)	2% (зразок 3)
Після магнітомічення – рН 4,5	-2,293	-1,595	-1,095
Після біосорбції Cu^{2+} – рН 5,0	-0,099	-0,297	-0,292
Післ'я десорбції Cu^{2+} – рН 2,0	0,698	0,695	0,691

Оскільки з літературних джерел відомо, що магнетит має розподілений додатній заряд в кислих середовищах, його присутність на поверхні клітини займає певну кількість активних центрів зв'язування, які можуть бути використані при біосорбції ВМ і таким чином, нейтралізує частково заряд поверхні клітини. Отже, кількість прикріплених магнітних міток має суттєве значення при створенні магнітомічених біосорбентів. Наприклад, якщо порівняти максимальні значення ЕР необроблених клітин дріжджів і магнітомічених клітин з відносною масою 1% (зразок 2), то при рН 7 відношення $(\mu_H - \mu_2) \cdot 100\% / \mu_H = 20\%$. З цієї причини досліджено ЕР магнітомічених клітин у разі сорбції/десорбції Cu^{2+} .

У роботі [9] кращим сорбентом є комплекси «магнітні мітки-дріжджова клітина», отримані методом багатовихрового МГД перемішування. В дослідженнях ЕР зразок 6 має найбільшу ЕР до біосорбції при рН 4,5 і є подібним до описаного в роботі [9], а тому підтверджує результат кращої пасивної біосорбції за рахунок більшого розподіленого заряду на поверхні клітин.

Після біосорбції іонів Cu^{2+} ЕР значно зменшується, що свідчить про заповнення центрів зв'язування на поверхні клітини катіонами. Після проведення кількісного аналізу, встановлено, що залишкова концентрація іонів Cu^{2+} складає приблизно 10 мг/дм^3 , що свідчить про 90% ефективність видалення катіонів з модельного розчину. Після процесу біосорбції ЕР магнітомічених зразків більша,

ніж у необроблених клітин (табл. 3.4). Тобто, наявна конкуренція між магнітними наномітками і катіонами Cu^{2+} за вільні центри або блокування центрів нанорозмірними мітками. Після проведення десорбції EP відновлюється на 30 % у необроблених клітин і на 40-60% у магнітомічених клітин (табл. 3.4).

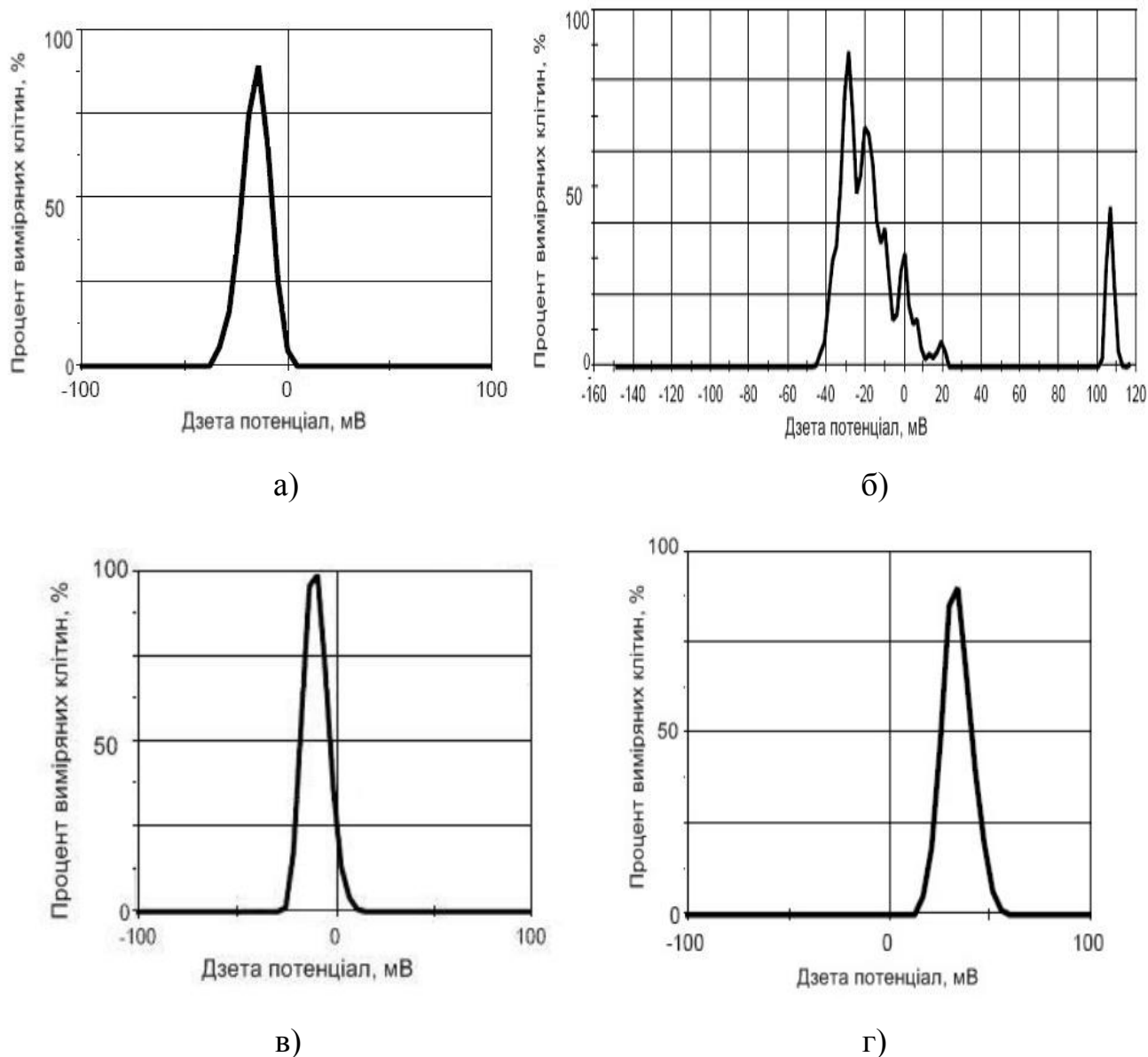
3.3 Електрокінетичний потенціал магнітоміченого біосорбенту

Магнітомічений біосорбент, отриманий удосконаленим методом багатовихрового МГД перемішування має більшу СЄ у порівнянні з біосорбентом, отриманим механічним перемішуванням, за рахунок того, що має більший розподілений заряд на своїй поверхні. Про це свідчить розподіл кількості клітин магнітоміченого біосорбенту і їхнього електрокінетичного потенціалу [12], представлений на рис. 3.6. Результати зняті на приладі для вимірювання дзета потенціалу Malvern Zetasizer Nano ZS (протокол досліджень магнітоміченого біосорбенту представлено в Додатку Г) [12].

Як видно з рис. 3.6б і 3.6в, магнітомічений біосорбент, виготовлений за допомогою багатовихрового МГД перемішування, має декілька пікових значень дзета-потенціалу, що свідчить про те що, можна виділити декілька фракцій магнітомічених клітин з різною магнітною сприйнятливістю. Оскільки для біосорбції катіонів найбільш ефективним буде біосорбент з від'ємним дзета-потенціалом, то на кривій розподілу можна виділити в цій області пікове значення -31 мВ [12]. В цьому сенсі стає необхідним розділення отриманої суспензії магнітоміченого біосорбенту на фракції, наприклад за допомогою ВГМС, з різними магнітними властивостями і СЄ.

Магнітомічений біосорбент, отриманий механічним перемішуванням, має максимальний від'ємний дзета-потенціал -25 мВ, і це значення менше за абсолютною величиною від максимального значення дзета-потенціалу біосорбенту, отриманого багатовихровим МГД перемішуванням [12]. Отже, магнітомічений біосорбент, виготовлений за допомогою багатовихрового МГД перемішування, має більшу кількість магнітомічених клітин, що володіють

розподіленим поверхневим зарядом і має кращі сорбційні характеристики, підтвержені у роботі [9]. Авторами запропоновано наступне пояснення цього явища – магнітні мітки під час багатовихрового МГД перемішування потрапляють в середину КС дріжджів, частково змінюючи її структуру.



- а) нативні *S. cerevisiae* – $-15,7 \pm 10,7$ мВ; б) магнітомічені дріжджі, отримані багатовихровим МГД перемішуванням: $-30,6$; $-18,7$; $-0,5$ мВ;
 в) магнітомічені дріжджі, отримані механічним перемішуванням – $-10,3 \pm 6,12$ мВ;
 г) нанорозмірні магнітні мітки – $33,5 \pm 7,22$ мВ (100 мг/дм³)

Рисунок 3.6 – Електрокінетичний потенціал

Також з рис. 3.6б видно, що значна кількість клітин володіє

електрокінетичним потенціалом -25 мВ і більше, що свідчить про кращу седиментаційну стійкість суспензії [125], оскільки відомо, що зі збільшенням величини електрокінетичного потенціалу збільшується внесок сил відштовхування на взаємне розташування частинок однієї фази.

3.3.1 Співставлення сорбції катіонів металів і електрокінетичного потенціалу

Для отриманих зразків біосорбентів проведено дослідження біосорбції катіонів Fe^{2+} і Fe^{3+} з модельних розчинів і зразків СВ міста Славутич. Результати порівняння представлені в табл. 3.5.

Таблиця 3.5 – Співставлення ζ -потенціалу з СЄ

Зразок	ζ потенціал, мВ	Кількість клітин, %	СЄ по залізу загальному, мг/г АСР	
			модельні розчини	СВ
Дріжджі <i>S. cerevisiae</i>	$-15,7 \pm 10,7$	100	64 ± 10	64 ± 15
Магнітомічений біосорбент 1 (механічне магнітомічення)	$-10,3 \pm 6,12$	100	220 ± 5	170 ± 10
Магнітомічений біосорбент 2 (багатовихрове МГД магнітомічення)	$-30,6 \pm 4,38$	90	250 ± 10	230 ± 10

Порівнюючи дані табл. 3.5 можна стверджувати, що у разі використання магнітомічених дріжджів, виготовлених за допомогою багатовихрового МГД перемішування, СЄ біосорбенту залишається приблизно на рівні нативних клітин – 250 мг/г сорбенту при оптимальному для біосорбції рН середовища, а електрокінетичний потенціал суспензії близький до значень для нативних дріжджів – -25 мВ. У той самий час СЄ і електрокінетичний потенціал магнітомічених дріжджів, отриманих за допомогою механічного перемішування, менші за відповідні показники у нативних дріжджів. Також можна зробити

висновок, що зі зменшенням електрокінетичного потенціалу суспензії магнітоміченого біосорбенту зменшується його СЄ [12].

Отримані результати для багатокомпонентної суміші (СВ) свідчать про складний характер сорбції магнітоміченими дріжджами і наявність коагуляції і конкурентної сорбції катіонів [12]. Щодо ефективності сорбції можна стверджувати, що магнітомічений біосорбент здатний вилучати в значних кількостях катіони, і його загальна СЄ потребує визначення кількості центрів зв'язування шляхом визначення ζ потенціалу. Магнітомічений біосорбент виготовлений за допомогою багатовихрового МГД перемішування, має більшу СЄ і більший за абсолютною величиною ζ потенціал, ніж виготовлений за механічного перемішування [12].

Варто відзначити, що представлені результати роботи були отримані при рН подібному до зразків стічних вод [12]. У випадку зменшення рН середовища від нейтрального до сильно кислого, буде зменшуватись і електрокінетичний потенціал [12] магнітомічених дріжджів, а СЄ магнітоміченого біосорбенту буде найбільшою при рН 5,5 і зменшується при віддаленні від цього значення. Тому в нейтральному середовищі магнітомічені дріжджі будуть володіти (табл. 3.5) високим електрокінетичним потенціалом і достатньою СЄ для видалення катіонів заліза.

Біомаса магнітомічених дріжджів показала себе як ефективний біосорбент катіонів важких металів, зокрема заліза. В подальшому планується виділення фракції магнітомічених дріжджів, яка б ефективно відфільтровувалась з очищеної води завдяки конкретному високоградієнтному магнітному сепаратору для очисних споруд і визначення сорбційних характеристик цієї фракції магнітомічених дріжджів. З цією метою буде проведено моделювання зміни СЄ в залежності від електрокінетичного потенціалу суспензії магнітомічених дріжджів, тривалості МГД перемішування і питомої ваги магнетиту в біосорбенті, а також буде проведено оптимізацію процесу магнітомічення.

3.4. Моделювання взаємозв'язку сорбційної ємності за катіонами міді і дзета потенціалом біосорбенту

З'ясовано взаємозв'язок між вимірною ЕР магнітоміченого біосорбенту і його СЄ. Електрокінетичний потенціал поверхні магнітоміченого біосорбенту визначався методом електрофорезу [13]. На основі теоретичних відомостей за вимірною ЕР магнітоміченого біосорбенту розраховано його максимальну СЄ і порівняно з вимірною СЄ. В ході експериментальних досліджень отримано магнітомічений біосорбент з відношенням маси нанорозмірних магнітних міток до маси біосорбенту в діапазоні 1:100–1:10 або 1–10% відповідно [13]. Процес прикріплення магнітних міток проводили за допомогою багатовихрового МГД перемішування при рН 2.5, напруженості зовнішнього магнітного поля 240 кА/м і тривалістю до 10 хв [13]. Отримані комплекси «магнітні мітки-дріжджова клітина» використані для біосорбції катіонів Cu^{2+} і для визначення ЕР [13].

Результати роботи показали, що вимірня ЕР комплексів при рН 5 змінюється у діапазоні $-2,5 \cdot 10^{-8}$ – $-1,8 \cdot 10^{-8}$ м²/Вс в залежності від маси магнітних міток в комплексах в межах 1-10%, відповідно [10]. Розраховано електрокінетичний потенціал поверхні біосорбенту: -23,3 – -16,7 мВ, відповідно, до ЕР [13]. Експериментально встановлено, що СЄ по відношенню до катіонів Cu^{2+} таких біосорбентів складає для відношення маси міток до маси біосорбенту 1 % – 25,5 мг/г АСР і для 10 % – 20,6 мг/г АСР [13]. Розраховані значення СЄ в залежності від ЕР складають для 1 % – 25,3 мг/г АСР і для 10 % – 18,4 мг/г АСР .

Для побудови математичного рівняння застосовано регресійний аналіз, оскільки в загальному випадку теоретична модель взаємозв'язку СЄ (y) і дзета потенціалу є багатофакторною. Факторами в даному спрощеному випадку обрано:

- відношення маси магнітних міток до дріжджів – x_1 в діапазоні 1 – 10 %,
- тривалість перемішування магнітних міток і дріжджів – x_2 в діапазоні 0 – 10 хв,
- електрокінетичний потенціал отриманих комплексів – x_3 в діапазоні -18 – -25 мВ.

Параметри плану: $k=3$, $n_0=4$, $a^2=2$, $N=18$.

Таблиця 3.6 – Центральний композиційний ортогональний план

№	x_0	x_1	x_2	x_3	Y_1	Y_2	Y_3	Y_4
1	1	1	1	1	20,7	20,8	20,6	20,5
2	1	-1	1	1	23,5	23,3	23,5	23,6
3	1	1	-1	1	19,9	19,8	19,9	19,9
4	1	-1	-1	1	24,9	24,7	24,7	24,8
5	1	1	1	-1	18,7	18,5	18,5	18,7
6	1	-1	1	-1	23,8	23,9	23,9	24
7	1	1	-1	-1	16,9	16,9	16,9	16,8
8	1	-1	-1	-1	25,1	25,2	25,2	25,1
9	1	0	0	0	21,7	21,6	21,8	21,8
10	1	0	0	0	21,9	21,8	21,7	21,9
11	1	0	0	0	21,9	21,7	21,7	21,8
12	1	0	0	0	21,8	21,6	21,6	21,7
13	1	1,414	0	0	19,1	19,2	19,3	19,2
14	1	-1,414	0	0	25,3	25,4	25,5	25,6
15	1	0	1,414	0	21,1	21,2	21,3	21,1
16	1	0	-1,414	0	20,4	20,3	20,2	20,5
17	1	0	0	1,414	22,5	22,4	22,2	22,4
18	1	0	0	-1,414	23,6	23,5	23,6	23,6
Σ	18	0	0	0	392,7	392,3	391,2	393,2

На основі експериментальних даних табл. 3.6 проведено розрахунок визначення

коефіцієнтів рівняння регресії. Результати розрахунків наведено в табл. 3.7.

Таблиця 3.7 – Результати розрахунків

№	Y_{cp}	S_j^2	$x_1 Y_{cp}$	$x_2 Y_{cp}$	$x_3 Y_{cp}$	$x_1 x_2 Y_{cp}$	$x_1 x_3 Y_{cp}$	$x_2 x_3 Y_{cp}$
1	20,65	0,017	20,65	20,65	20,65	20,65	20,65	20,65
2	23,475	0,016	-23,475	23,475	23,475	-23,475	-23,475	23,475
3	19,875	0,002	19,875	-19,875	19,875	-19,875	19,875	-19,875
4	24,775	0,009	-24,775	-24,775	24,775	24,775	-24,775	-24,775
5	18,6	0,013	18,6	18,6	-18,6	18,6	-18,6	-18,6
6	23,9	0,007	-23,9	23,9	-23,9	-23,9	23,9	-23,9
7	16,875	0,002	16,875	-16,875	-16,875	-16,875	-16,875	16,875
8	25,15	0,003	-25,15	-25,15	-25,15	25,15	25,15	25,15
9	21,725	0,009	0	0	0	0	0	0
10	21,825	0,009	0	0	0	0	0	0
11	21,775	0,009	0	0	0	0	0	0
12	21,675	0,009	0	0	0	0	0	0
13	19,2	0,007	27,149	0	0	0	0	0
14	25,45	0,017	-35,986	0	0	0	0	0
15	21,175	0,009	0	29,941	0	0	0	0
16	20,35	0,017	0	-28,775	0	0	0	0
17	22,375	0,016	0	0	-33,335	0	0	0
18	23,575	0,003	0	0	31,638	0	0	0
Σ	392,425	0,174	-30,138	1,117	2,553	5,050	5,850	-1,000

Продовження Таблиці 3.7

№	x_{11}	x_{22}	x_{33}	$(x_{11})^2$	$(x_{22})^2$	$(x_{33})^2$	$x_{11} \cdot Y_{cp}$	$x_{22} \cdot Y_{cp}$	$x_{33} \cdot Y_{cp}$
1	0,333	0,333	0,333	0,111	0,111	0,111	6,883	6,883	6,883
2	0,333	0,333	0,333	0,111	0,111	0,111	7,825	7,825	7,825
3	0,333	0,333	0,333	0,111	0,111	0,111	6,625	6,625	6,625
4	0,333	0,333	0,333	0,111	0,111	0,111	8,258	8,258	8,258
5	0,333	0,333	0,333	0,111	0,111	0,111	6,200	6,200	6,200
6	0,333	0,333	0,333	0,111	0,111	0,111	7,967	7,967	7,967
7	0,333	0,333	0,333	0,111	0,111	0,111	5,625	5,625	5,625
8	0,333	0,333	0,333	0,111	0,111	0,111	8,383	8,383	8,383
9	-0,667	-0,667	-0,667	0,444	0,444	0,444	-14,483	-14,483	-14,483
10	-0,667	-0,667	-0,667	0,444	0,444	0,444	-14,550	-14,550	-14,550
11	-0,667	-0,667	-0,667	0,444	0,444	0,444	-14,517	-14,517	-14,517
12	-0,667	-0,667	-0,667	0,444	0,444	0,444	-14,450	-14,450	-14,450
13	1,333	-0,667	-0,667	1,778	0,444	0,444	25,600	-12,800	-12,800
14	1,333	-0,667	-0,667	1,778	0,444	0,444	33,933	-16,967	-16,967
15	-0,667	1,333	-0,667	0,444	1,778	0,444	-14,117	28,233	-14,117
16	-0,667	1,333	-0,667	0,444	1,778	0,444	-13,567	27,133	-13,567
17	-0,667	-0,667	1,333	0,444	0,444	1,778	-15,717	-15,717	31,433
18	-0,667	-0,667	1,333	0,444	0,444	1,778	-14,917	-14,917	29,833
Σ	0	0	0	4,861	4,861	4,861	-1,426	-4,563	1,341

Відповідно (2.36), отримано рівняння для визначення СЄ по катіонах Cu^{2+} (y), мг/г:

$$y = 21,9 - 2,5x_1 + 0,6x_1x_2 + 0,7x_1x_3 - 0,66x_2^2 + 0,45x_3^2 \quad (3.1)$$

і його графічну інтерпретацію представлено на рис. 3.7. Наступним кроком проведено аналіз значимості коефіцієнтів рівняння регресії, відтворюваності результатів експериментів і адекватності отриманої моделі.

Таблиця 3.8 – Перевірка значимості коефіцієнтів і адекватності моделі

Коефіцієнт	b_0	b_1	b_2	b_3	b_{12}	b_{13}	b_{23}	b_{11}	b_{22}	b_{33}
Значення	21,9	-2,5	0,1	0,2	0,6	0,7	-0,13	0,12	-0,66	0,45
t -статистика	221,6	20,85	0,77	1,77	4,28	4,96	0,85	0,83	4,46	3,04
$t_{\text{теор}}(0,05;6)$	2,45									
Висновок	Значимі		незначимі		значимі		не значимі		значимі	
Дисперсія	Адекватності, $S_{ад}^2$		Відновлюваності, $S_{відн}^2$		Коефіцієнтів					
	1,395		0,174		$S_{b_0}^2$		$S_{b_j}^2$		$S_{b_{ij}}^2$	
Критерій	Фішера				Кохрена					
	Теор. $f(0,05;8;3)$		Експ. $S_{ад}^2/S_{відн}^2$		Теор. $G(0,05;16;4)$			Експ. $S_j^2/S_{відн}^2$		
	8,845		8,012		0,242			0,1		
	Модель адекватна				Дисперсії однорідні					

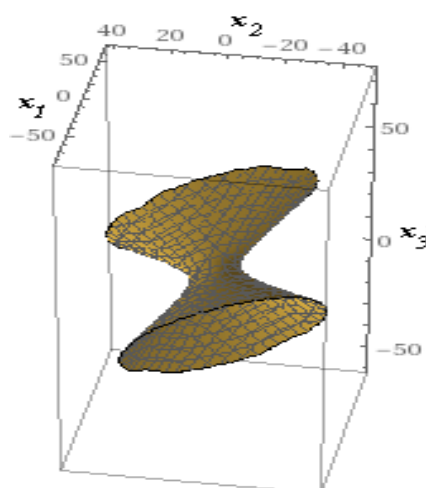


Рисунок 3.7 – Зображення поверхні відгуку рівняння регресії

Аналіз отриманого рівняння шляхом вирішення задачі максимізації функції $y=f(x_1, x_2, x_3)$ показав, що найбільшу СЄ по Cu^{2+} із значенням 25,5 мг/г буде мати

магнітомічений біосорбент, отриманий за наступних значень факторів: $x^o_1 = -1$, $x^o_2 = -0,96$, $x^o_3 = -1$ ($x^{max}_3 = -1,62$), або $X^o_1 = 1\%$ магнітних міток до маси дріжджів, $X^o_2 = 2$ хв багатовихрового МГД перемішування, $X^o_3 = -25$ мВ.

Висновки до розділу 3

За результатами досліджень в розділі 3 зроблено наступні висновки:

1. проведені дослідження з магнітомічення методом багатовихрового МГД перемішування показали, що магнітомічений біосорбент на основі *S. cerevisiae*, отриманий удосконаленим багатовихровим МГД перемішуванням, має СЄ не меншу ніж не магнітомічений біосорбент – 25,5 мг/г по катіонах Cu^{2+} ;

2. на процес біосорбції катіонів Cu^{2+} магнітоміченими дріжджами виготовленими за допомогою багатовихрового МГД перемішування впливають параметри магнітомічення: рН середовища, напруженість зовнішнього магнітного поля H_0 , і параметри сорбційної системи: концентрація біосорбенту, концентрація катіонів Cu^{2+} ;

3. електрофоретична рухливість *S. cerevisiae* магнітомічених методом багатовихрового МГД перемішування ($\mu_{МГД7} = -3,08 \cdot 10^{-8}$ м²/Вс) і за допомогою механічного перемішування ($\mu_{Мех7} = -3,34 \cdot 10^{-8}$) більша при рН 8 ніж при рН 5,5 – $\mu_{МГД5,5} = -2,8 \cdot 10^{-8}$ м²/Вс і $\mu_{Мех5,5} = 2,6 \cdot 10^{-8}$ м²/Вс, відповідно;

4. розподіл електрокінетичного потенціалу біомаси магнітомічених *S. cerevisiae* методом багатовихрового МГД перемішування має декілька пікових значень (-30,6 мВ; -18,7 мВ; -0,5 мВ), що свідчить про різну кількість прикріпленого магнетиту і відповідно дає можливість фракціонувати біомасу по магнітній сприйнятливості;

5. встановлено взаємозв'язок електрокінетичного потенціалу і СЄ магнітомічених дріжджів *S. cerevisiae* методом регресійного аналізу;

6. максимальна СЄ магнітоміченого біосорбенту по Cu^{2+} складає 25,5 мг/г у разі таких параметрів магнітомічення: відношення магнітних міток до маси дріжджів – 1%, тривалість багатовихрового МГД перемішування 2 хв.

РОЗДІЛ 4. ОПТИМІЗАЦІЯ ПРОЦЕСУ ВИГОТОВЛЕННЯ МАГНІТОМІЧЕНОГО БІОСОРБЕНТУ ТА ЗАКОНОМІРНОСТІ СОРБЦІЇ НИМ КАТІОНІВ Cu^{2+}

4.1 Дослідження впливу параметрів процесу прикріплення наномагнетиту на сорбційні характеристики дріжджів

Визначення оптимальних параметрів процесу виготовлення з точки зору сорбційних характеристик дає змогу ефективно використовувати магнітомічений біосорбент і призводить до економії біомаси на очищення СВ від катіонів ВМ.

Досліджено максимальну СЄ дріжджів *S. cerevisiae* по відношенню до нанорозмірного магнетиту в залежності від методу перемішування (рис. 4.1) [11]. Умови експериментальних досліджень: 1) рН системи 5,5; 2) тривалість механічного перемішування – 90 хв; 3) тривалість багатовихрового МГД перемішування – 10 хв; 4) концентрація дріжджів – 100 мг АСР/дм³.

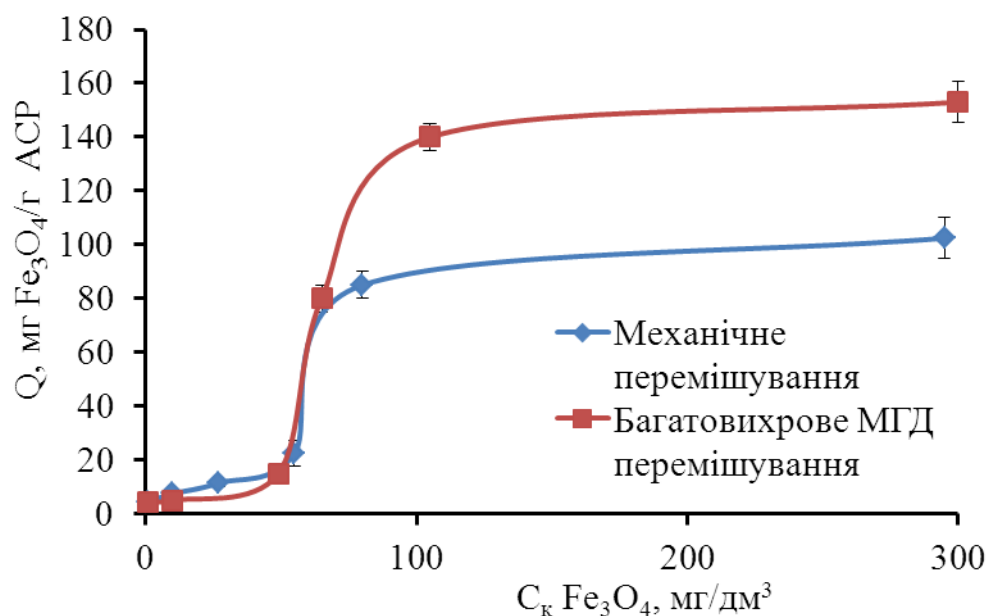
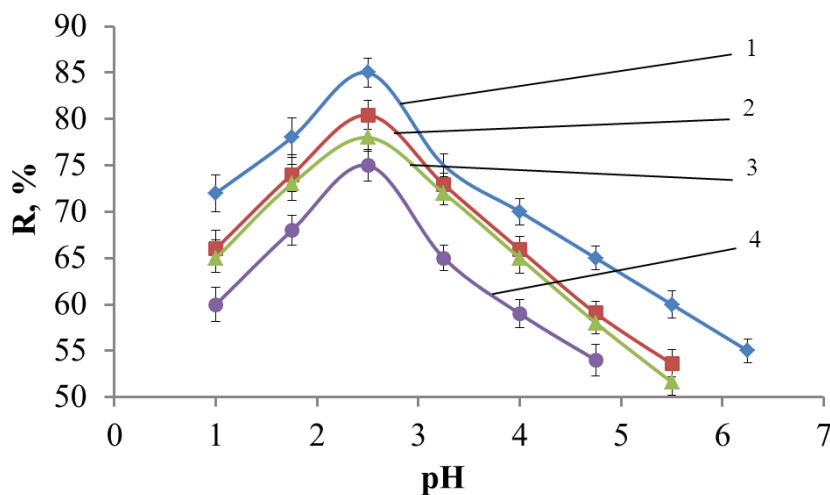


Рисунок 4.1 – Ізотерми сорбції Fe_3O_4 біомасою дріжджів *S. cerevisiae* ($p \leq 0,05$)

Як видно з рис. 4.1 у випадку багатовихрового МГД перемішування кількість прикріплених магнітних міток значно більша, ніж прикріплених за допомогою механічного перемішування. Тобто підтверджуються висновки розділу 3, що саме

багатовихрове МГД переміщення є більш ефективним для магнітомічення, ніж механічне перемішування суспензій дріжджів і нанорозмірного магнетиту.

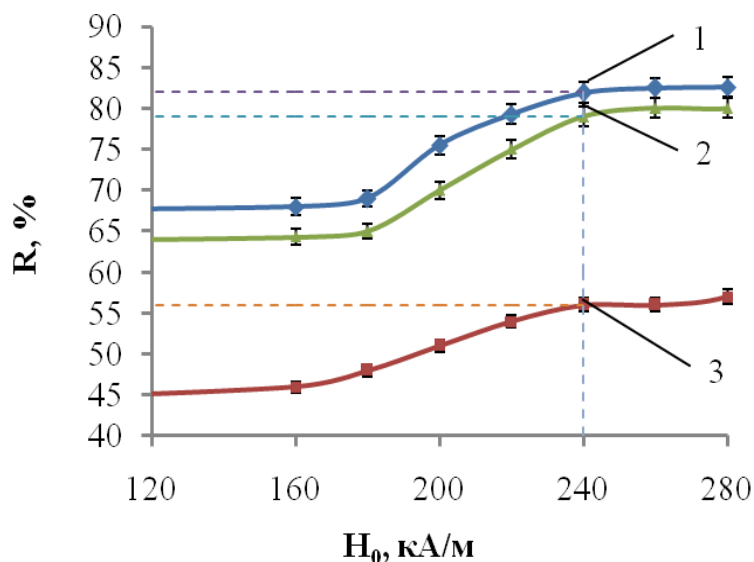
На рис. 4.2 [13] представлено дослідження вилучення катіонів Cu^{2+} з модельних розчинів суспензією магнітомічених дріжджів у разі зміни рН багатовихрового МГД перемішування. Магнітомічені дріжджі (з 1% по масі Fe_3O_4) отримані за таких параметрів МГД перемішування: $t=10$ хв і $H_0=240$ кА/м. Біосорбцію проводили при механічному перемішуванні 60 хв з оптимальним рН 5,5 для дріжджів. Початкова концентрація катіонів Cu^{2+} і концентрація суспензії дріжджів у цих дослідах – 50 мг/дм³. Ступінь вилучення катіонів R розраховували як відношення кількості сорбованих катіонів до початкової кількості катіонів Cu^{2+} .



1 – дріжджова суспензія; 2 – магнетиту 1%; 3 – магнетиту 2%; 4 – магнетиту 10%

Рисунок 4.2 – Ступінь вилучення катіонів Cu^{2+} в залежності від зміни рН розчину при виготовленні біосорбенту методом багатовихрового МГД перемішування з різною кількістю магнетиту ($p \leq 0,05$)

Досліджено ступінь вилучення катіонів Cu^{2+} магнітоміченими дріжджами в залежності від H_0 при багатовихровому МГД перемішуванні дріжджів і магнітним міток перед біосорбцією. На рис. 4.3 [13] суспензії дріжджів (100 мг/дм³) з 1% по масі магнітних наноміток отримані за допомогою МГД перемішування 0-10 хв і рН 2,5 при різних значеннях напруженості зовнішнього магнітного поля H_0 , а потім направлені на сорбцію катіонів Cu^{2+} .



1 – 0 хв; 2 – 2 хв; 3 – 10 хв

Рисунок 4.3 – Ступінь вилучення катіонів Cu^{2+} магнітоміченими дріжджами в залежності від напруженості магнітного поля H_0 багатовихрового МГД перемішування дріжджів і магнітних міток ($p \leq 0,05$)

Як видно з рис. 4.3, зі збільшенням напруженості зовнішнього магнітного поля H_0 у разі виготовлення кожного зразку магнітомічених дріжджів ступінь вилучення катіонів Cu^{2+} після біосорбції збільшується. Так відбувається до $H_0=240$ кА/м і $R=82$ %, після чого зі збільшенням напруженості зовнішнього магнітного поля ступінь вилучення збільшується не значно до $H_0=280$ кА/м.

На рис. 4.4 [13] представлено СЄ магнітомічених біосорбентів по катіонам Cu^{2+} в залежності від співвідношення маси магнітних міток до маси біосорбенту у діапазоні $m_m/m_{dp}=1-10$ % (0 % відповідає контроль – нативна біомаса дріжджів *S. cerevisiae*).

Як видно з рис. 4.4, суспензія магнітомічених дріжджів з відношенням маси наноміток до маси дріжджів $m_m/m_{dp}=10$ % має найменшу СЄ і ступінь вилучення відносно катіонів Cu^{2+} серед усіх відношень мас m_m/m_{dp} . У разі відношення мас 0 % (контроль) і 1% максимальна СЄ магнітомічених дріжджів по відношенню до катіонів Cu^{2+} співпадає і складає 25,5 мг/г АСР і є найбільшою серед представлених.

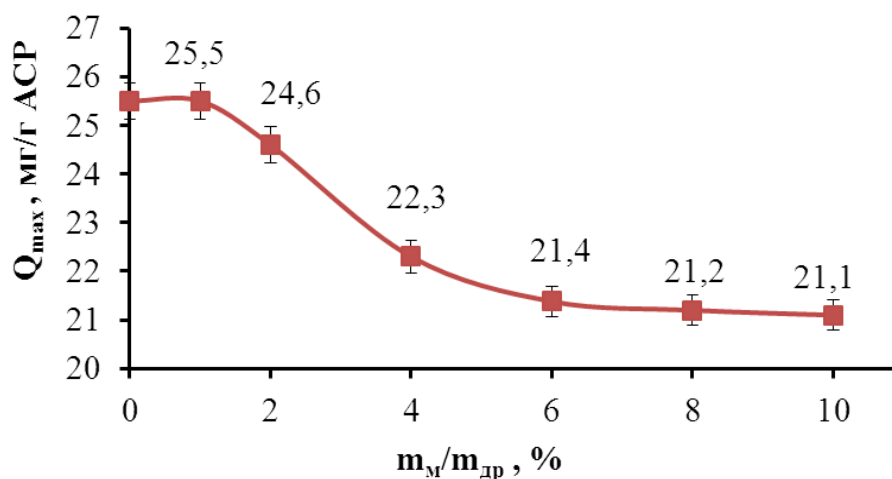


Рисунок 4.4 – Максимальна СС Q_{max} магнітомічених дріжджів по катіонам Cu^{2+} в залежності від відношення маси наноміток до маси дріжджів *S. cerevisiae* m_M/m_{DP} ($p \leq 0,05$)

На рис. 4.5 представлено ступінь вилучення катіонів Cu^{2+} магнітоміченими біосорбентами в залежності від тривалості багатовихрового МГД перемішування дріжджів і магнітних міток при співвідношенні $m_M/m_{DP}=1 \%$ [13].

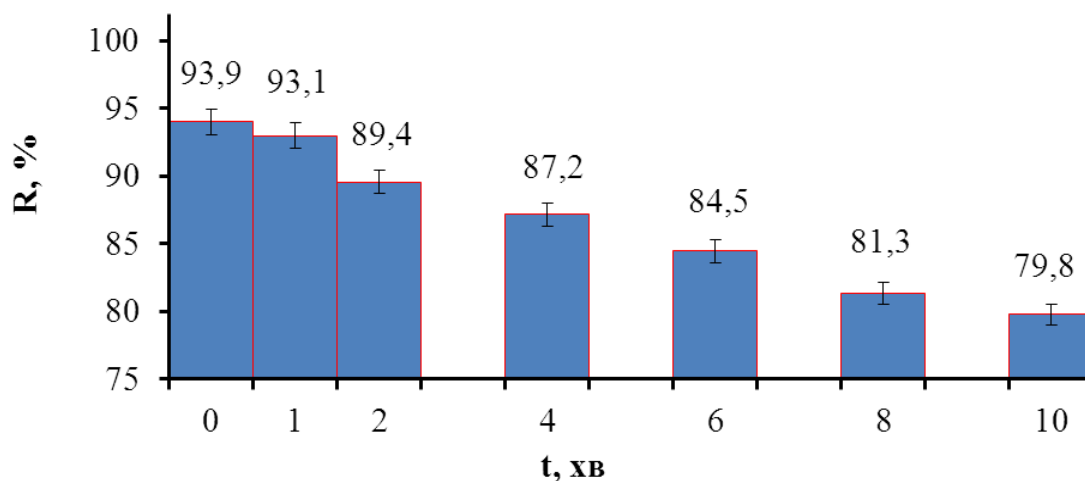


Рисунок 4.5 – Ступінь вилучення катіонів Cu^{2+} магнітоміченими дріжджами в залежності від тривалості виготовлення біосорбенту ($p \leq 0,05$)

Можна зробити висновок, що зі зменшенням тривалості багатовихрового МГД перемішування ступінь вилучення, а отже і максимальна СС магнітомічених дріжджів збільшується. Мінімумальною тривалістю МГД перемішування (18 хв^{-1}) є 2 хв для отримання гомогенної системи. Таким чином отримані

раціональні параметри процесу магнітомічення біомаси дріжджів за допомогою багатовихрового МГД перемішування.

4.2 Аналіз внеску функціональних груп на процеси прикріплення і сорбції катіонів важких металів магнітоміченим біосорбентом

Максимальна СЕ біосорбентів, отриманих з нативних і магнітомічених дріжджів шляхом модифікації КС, представлені на рис. 4.6 [14]. Як видно з рис. 4.6, магнітомічені і нативні дріжджі (зразки 1 і 2) володіють однаковою в межах похибки СЕ, по відношенню до катіонів Cu^{2+} – $25,5 \pm 0,3 \text{ мг Cu}^{2+} / \text{г}$ сухої речовини сорбенту. Така подібність пояснюється оптимізацією методу виготовлення магнітоміченого біосорбенту. Обробка суспензій нативних і магнітомічених дріжджів лугом NaOH призводить до зменшення СЕ обох зразків 3 і 4 в однакових кількостях – до $21,6 \pm 0,2 \text{ мг/г}$, що свідчить про те, що в структурі КС залишаються однакові компоненти.

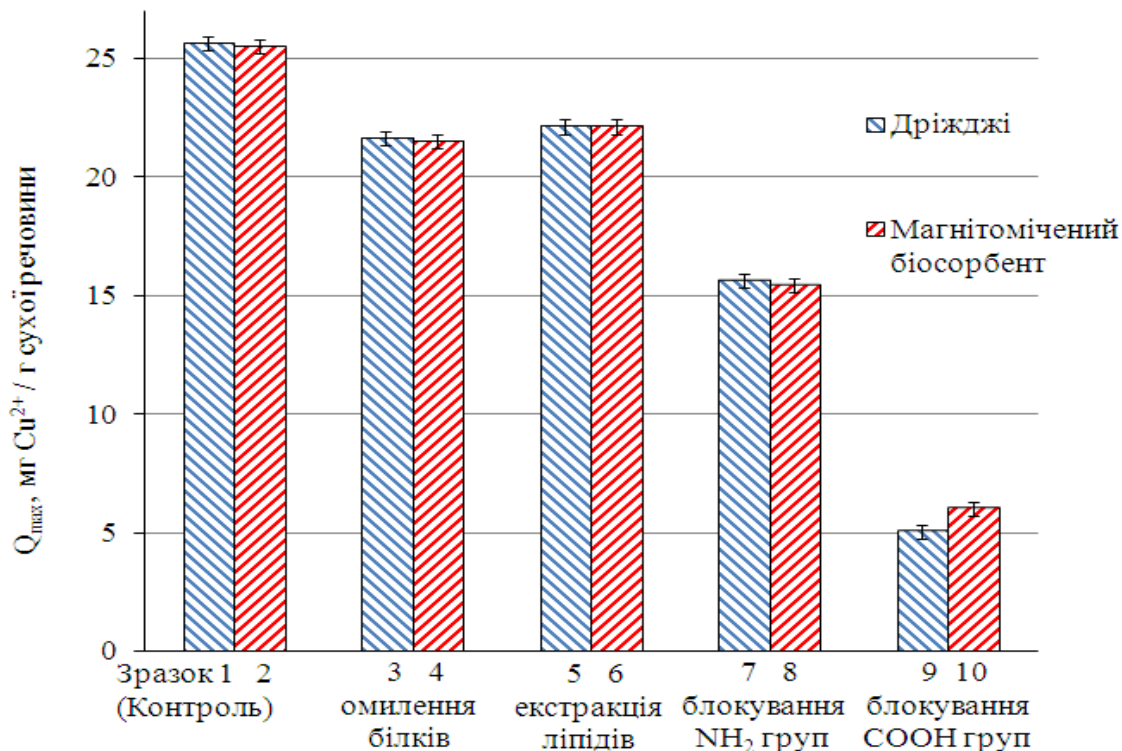


Рисунок 4.6 – Максимальна СЕ Q_{max} по катіонах Cu^{2+} в залежності від методу модифікації ($p \leq 0,05$)

Подібна ситуація спостерігається і при екстракції ліпідів з КС обох біосорбентів за допомогою ацетону – зменшення СЕ зразків 5 і 6 до $22,1 \pm 0,2$ мг/г. Іншими словами, нанорозмірні магнітні мітки не локалізуються в клітинній стінці магнітомічених дріжджів на ліпідах.

З літературних джерел, наприклад [40], відомо, що серед усіх функціональних груп, представлених компонентами КС, для біосорбції катіонів металів найбільш важливими є карбоксильні $-\text{COOH}$ і аміногрупи $-\text{NH}_2$. На рис. 4.6 представлено також порівняння СЕ нативних і магнітомічених дріжджів у разі блокування цих функціональних груп. Метилювання аміногруп формальдегідом і мурашиною кислотою призводить до зменшення СЕ по катіонам Cu^{2+} для нативних і магнітомічених дріжджів до $15,6 \pm 0,3$ і $15,4 \pm 0,3$ мг/г відповідно. У випадку етерифікації карбоксильних груп СЕ клітинних стінок дріжджів значно зменшується – до $5,0 \pm 0,3$ і $6,0 \pm 0,3$ мг/г для нативних і магнітомічених дріжджів відповідно.

Для того, щоб з'ясувати місце прикріплення і вплив на зв'язування катіонів Cu^{2+} за допомогою нанорозмірних міток магнетиту проведені дослідження по сорбції катіонів Cu^{2+} виділеними компонентами КС магнітомічених дріжджів і порівняно результати з нативними дріжджами. Результати представлені на рис. 4.7.

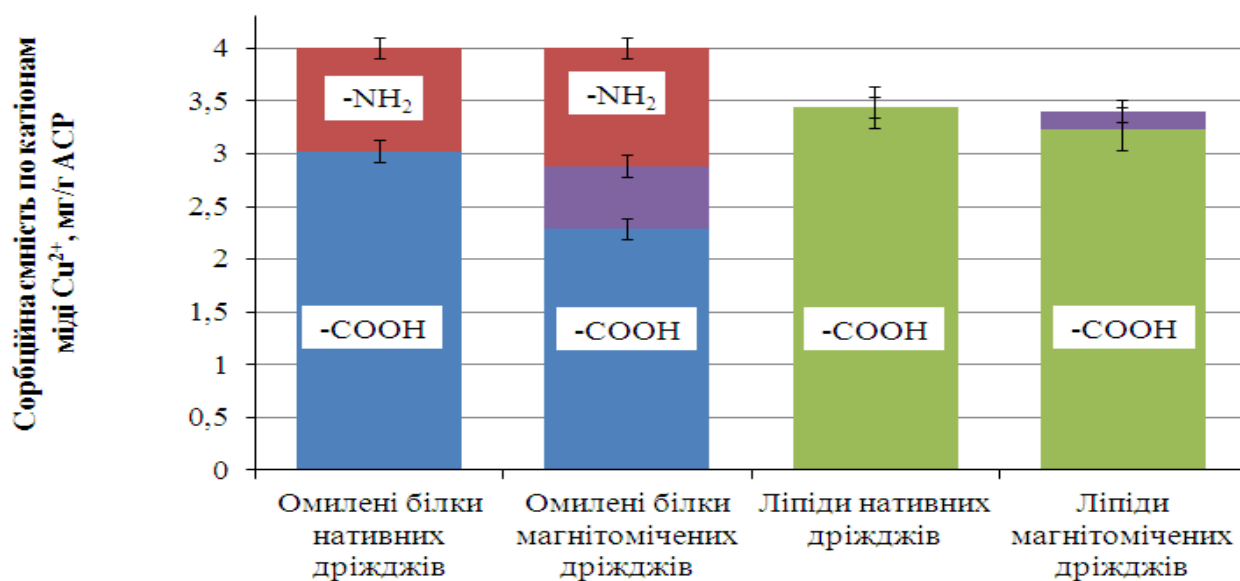


Рисунок 4.7 – Максимальна СЕ Q_{max} екстрактів з клітинних стінок по катіонах Cu^{2+} в перерахунку на масу сорбенту ($p \leq 0,05$)

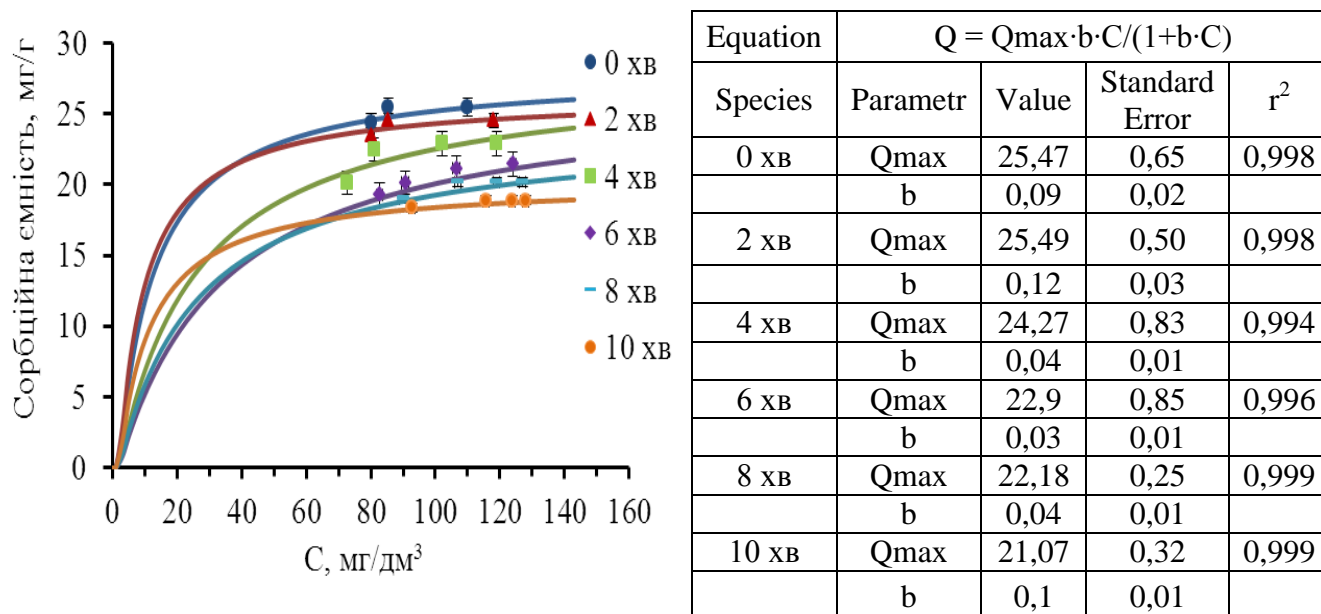
Як видно з рис. 4.7, СЄ обумовлена амніогрупами компонентів КС вилучених за допомогою луку NaOH однакова для нативних і магнітоміченого біосорбенту. Навпроти, в тих самих екстрактах карбоксильні групи магнітомічених дріжджів блокувані магнетитом на 15 %. В екстрактах ліпідів з магнітоміченої біомаси спостерігається зменшення вкладу карбоксильних груп лише у межах похибки, тому зробити висновок про наявність сорбції катіонів Cu^{2+} магнетитом в ліпідах не вдається.

З точки зору техніко-економічної доцільності використання магнітоміченого біосорбенту можна зробити висновок, що у разі співвідношення маси магнітних міток до дріжджів 1% максимальна СЄ магнітомічених дріжджів відповідає СЄ нативних дріжджів. Тобто нанорозмірний магнетит прикріплений до дріжджової клітини блокує еквіваленту кількість центрів зв'язування катіонів Cu^{2+} до кількості центрів, яку він надає.

4.3 Оптимізація параметрів процесу виготовлення магнітоміченого біосорбенту

Проведено експерименти по встановленню зміни максимальної СЄ магнітоміченого біосорбенту в залежності від тривалості багатовихрового МГД перемішування під час прикріплення наномагнетиту. Багатовихрове МГД перемішування дріжджів і наномагнетиту з співвідношенням мас 1 % відповідно проводили при рН 2,5 і $H_0=240$ кА/м, тобто найбільш ефективних експериментальних параметрах. Біосорбція магнітоміченим біосорбентом катіонів Cu^{2+} проводилась при механічному перемішуванні при оптимальному рН.

Отримані результати експериментів по біосорбції при 20 °С оброблені за допомогою моделі моношарової сорбції Ленгмюра (1.4) і представлені на рис. 4.8, де зображено ізотерми біосорбції катіонів Cu^{2+} для тривалості виготовлення біосорбенту 2, 4, 6, 8 і 10 хв і контроль без багатовихрового МГД перемішування.



1 – 0 хв; 2 – 2 хв; 3 – 4 хв; 4 – 6 хв; 5 – 8 хв; 6 – 10 хв

Рисунок 4.8 – Ізотерми сорбції $Q = f(C)$ катіонів Cu^{2+} магнітоміченим біосорбентом у разі різної тривалості виготовлення сорбенту методом багатовихрового МГД перемішування ($p \leq 0,05$)

Параметри багатовихрового МГД перемішування для виготовлення оптимального магнітоміченого біосорбенту: рН 2,5 і напруженість постійного магнітного поля $H_0^* = 240$ кА/м. Ступінь вилучення катіонів Cu^{2+} магнітоміченим біосорбентом, виготовленим у разі 2 хв багатовихрового МГД перемішування з співвідношенням маси магнітних міток до маси дріжджів 1 % складає 89 % при початковій концентрації катіонів Cu^{2+} – 50 мг/дм³, а максимальна СЄ $Q_{max} = 25,5$ мг/г АСР сорбенту, що відповідає СЄ нативних дріжджів по відношенню до катіонів Cu^{2+} .

Магнітомічений біосорбент з вказаними вище параметрами виготовлення демонструє ізотерму сорбції катіонів Cu^{2+} подібну до нативних дріжджів, а максимальна СЄ відрізняється від нативних дріжджів у межах похибки. Спостерігається зменшення максимальної СЄ по відношенню до катіонів Cu^{2+} від 25,5 мг Cu^{2+} /г АСР до 21,1 мг Cu^{2+} /г АСР сорбенту при відповідному збільшенні тривалості багатовихрового МГД перемішування від 2 до 10 хв у разі виготовлення магнітомічених дріжджів.

Згідно рівняння (1.12) кінетики сорбції псевдо-другого порядку, базуючись на експериментально отриманих значеннях СЄ, отримані наступні кінетичні моделі, проілюстровані на рис. 4.9.

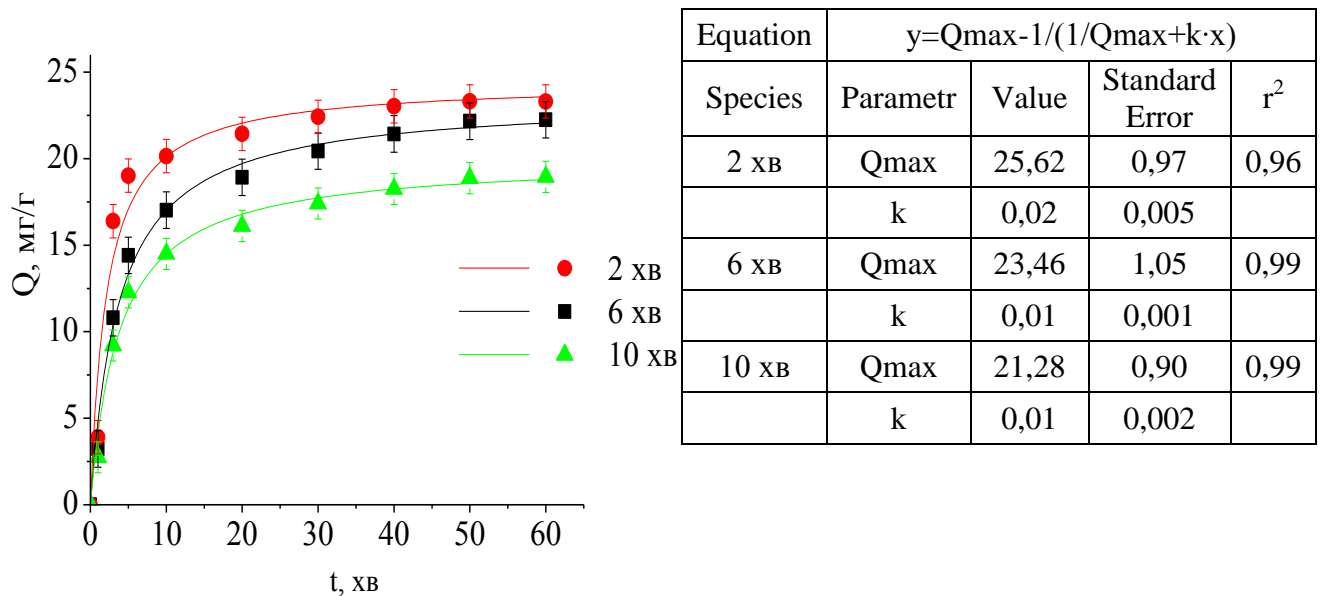
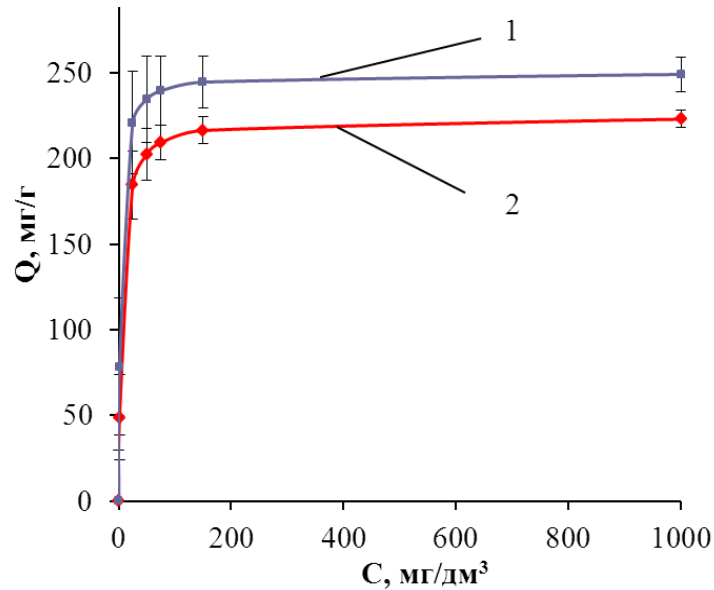


Рисунок 4.9 – Кінетика сорбції катіонів Cu^{2+} магнітоміченим біосорбентом на основі дріжджів *S. cerevisiae* залежно від тривалості ($p \leq 0,05$)

В результаті моделювання оцінка максимальної СЄ для магнітоміченого біосорбенту, отриманого за раціональних умов, складає $25,62 \pm 0,97$ мг Cu^{2+} /г АСР сорбенту. Тобто значення СЄ $25,5 \pm 0,5$ мг/г, отримане для ізотерми біосорбції, входить в діапазон стандартного відхилення максимальної СЄ, розрахованої з рівняння (1.12). Можна вважати, що модель кінетики сорбції псевдо-другого порядку адекватно описує насичення магнітоміченого біосорбенту катіонами Cu^{2+} з коефіцієнтом детермінації 0,96.

Досліджено біосорбцію катіонів Fe^{2+} з модельних розчинів магнітоміченими дріжджами *S. cerevisiae*, отриманими методами механічного і багатовихрового МГД перемішування. Для виготовлення магнітоміченого біосорбенту методом багатовихрового МГД перемішування використано раціональні параметри магнітомічення, які було визначено в дослідженнях біосорбції катіонів Cu^{2+} . Початкова концентрація катіонів Fe^{2+} – $1,0$ мг/дм³. Концентрація біосорбентів варіювала в межах $100-400$ мг/дм³. Біосорбцію проведено з механічним перемішуванням 180 хв⁻¹. Тривалість сорбції – 1 год. Результати досліджень у

вигляді ізотерм сорбції представлено на рис. 4.10.



1 – багатовихрове МГД перемішування, 2 – механічне перемішування

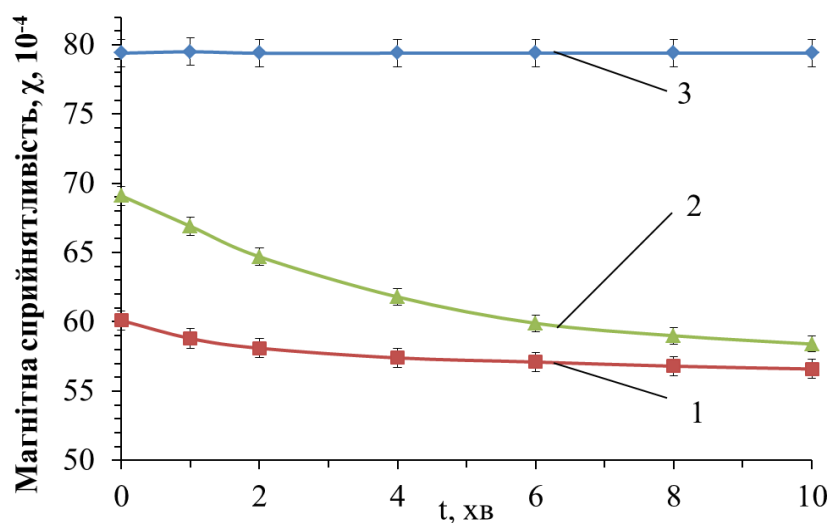
Рисунок 4.10 – Ізотерми сорбції з модельних розчинів іонів заліза магнітоміченими біосорбентами у разі різних методів магнітомічення ($p \leq 0,05$)

СЄ дріжджів у разі магнітомічення методом багатовихрового МГД перемішування – 250 ± 10 мг/г АСР біомаси натуральної вологості, а у випадку механічного перемішування – 220 ± 5 мг/г АСР. Як видно з рис. 4.10, магнітомічений біосорбент, виготовлений методом багатовихрового перемішування з раціональними параметрами магнітомічення, має більшу СЄ і константу моделі Ленгмюра, ніж той самий біосорбент, але отриманий механічним перемішуванням суспензій. Отже, для біосорбції катіонів Fe^{2+} і Fe^{3+} можна використати ті самі параметри магнітомічення, які були досліджені для біосорбції катіонів Cu^{2+} .

4.4 Дослідження магнітної сприйнятливості магнітомічених біосорбентів

Досліджено магнітну сприйнятливість комплексів «магнітні мітки–дріжджова клітина» в залежності від тривалості виготовлення і відношення мас дріжджів і магнітних міток в комплексах [13]. Отримані експериментальні результати

подібні до отриманих при розрахунках згідно методики визначення магнітної сприйнятливості магнітомічених комплексів. Результати експериментів представлені на рис. 4.11.



1 – біосорбент з 1 % наномагнетиту, 2 – біосорбент з 10 % наномагнетиту,
3 – контроль (розчин магнетиту 100 мг/дм³)

Рисунок 4.11 – Магнітна сприйнятливість χ суспензій біосорбентів в залежності від тривалості t виготовлення магнітоміченого біосорбенту ($p \leq 0,05$)

Величини магнітної сприйнятливості магнетиту і магнітомічених клітин свідчать про те, що всі вони відносяться до парамагнетиків. Як видно, магнітна сприйнятливість магнітних міток Fe_3O_4 складає $(79,5 \pm 0,5) \cdot 10^{-4}$. Відомо, що магнітна сприйнятливість *S. cerevisiae* складає $(-69,4 \pm 0,8) \cdot 10^{-6}$ відповідно даним [6]. У магнітомічених клітин отриманих при багатовихровому МГД перемішуванні магнітна сприйнятливість залежить від кількості магнетиту в комплексах і зменшується зі збільшенням тривалості процесу виготовлення. Для магнітоміченого біосорбенту з 1 % наномагнетиту по масі виготовленого за 2 хв магнітна сприйнятливість складає $(58 \pm 0,5) \cdot 10^{-4}$, а виготовленого за 10 хв $(56 \pm 0,5) \cdot 10^{-4}$. Зменшення магнітної сприйнятливості ймовірно свідчить про те, що магнітні мітки при багатовихровому МГД перемішування проникають у внутрішні шари КС.

Висновки до розділу 4

За результатами проведених досліджень в розділі 4 зроблено наступні висновки:

1. встановлено характеристики процесу біосорбції магнітоміченим біосорбентом: на прикладі катіонів Cu^{2+} і Fe^{2+} – визначені параметри моделі Ленгмюра, на прикладі катіонів Cu^{2+} – визначені константи кінетики сорбції в залежності від параметрів магнітомічення біосорбенту;

2. визначено раціональні параметри процесу магнітомічення методом багатовихрового МГД перемішування суспензії дріжджів і наномагнетиту з урахуванням характеристик біосорбції катіонів Cu^{2+} . Раціональні параметри процесу магнітомічення наступні: рН 2,5; напруженість магнітного поля 240 кА/м, тривалість – 2 хв, відношення маси магнітних міток до маси дріжджів – 1%;

3. встановлено, що у випадку біосорбції катіонів Fe^{2+} магнітоміченим біосорбентом, виготовленим за раціональних параметрів багатовихрового МГД 18 хв^{-1} магнітомічення визначених на сорбції катіонів Cu^{2+} , СЄ більше, ніж у біосорбенту, виготовленого за механічного перемішування 180 хв^{-1} суспензій дріжджів і магнітних міток, а саме: 250 мг/г АСР і 220 мг/г АСР, відповідно;

4. визначена залежність магнітної сприйнятливості магнітоміченої суспензії від кількості прикріплених магнітних міток. Питома магнітна сприйнятливість суспензій магнітомічених *S. cerevisiae* методом багатовихрового МГД перемішування знаходиться в діапазоні $(55-70) \cdot 10^{-4}$ у разі прикріплення магнітних міток у кількості 1-10% від маси дріжджів відповідно.

РОЗДІЛ 5. ТЕХНІКО-ЕКОНОМІЧНІ ПОКАЗНИКИ ТЕХНОЛОГІЇ МАГНІТОМІЧЕННЯ БІОСОРБЕНТУ

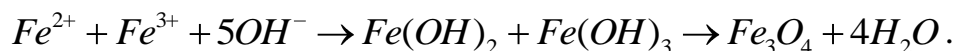
Проведені дослідження процесу магнітомічення *S. cerevisiae* методом багатовихрового МГД перемішування, результати яких представлені в розділах 3 і 4, послужили основою для вдосконалення технології інтенсифікації сорбції іонів міді та хрому дріжджами *Saccharomyces cerevisiae* в магнітному полі [103]. В такій технології запропоновано спочатку проводити процес біосорбції забруднюючих речовин у вигляді катіонів ВМ методом багатовихрового МГД перемішування, а потім шляхом феритизації надавати відпрацьованій біомасі магнітні властивості для швидкісного видалення методом ВГМС [127]. Видалена магнітна фракція, яка складається з магнітомічених дріжджів і магнетиту, піддається фізичній обробці для утилізації – спалювання і отримання феритизованого активованого вугілля.

Недоліком такої технології є те, що під час магнітомічення отримується біомаса, в якій питома магнітна сприйнятливість є величиною змінною, відповідно як і відношення маси магнітних міток до маси дріжджів. Це призводить до не раціональних витрат реактивів на феритизацію для ефективної фільтрації магнітоміченої біомаси на ВГМС.

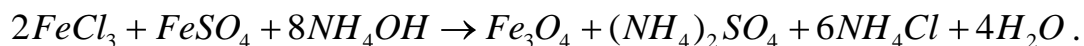
5.1 Обґрунтування технології

Основою біотехнології магнітомічення є удосконалений метод багатовихрового МГД перемішування, описаний в розділі 3. Завдяки дії магнітного поля на елементи насадки у вигляді циліндрів, як показано в розділі 1, на поверхні останніх виникає різниця електричних потенціалів, тобто наводиться електричне поле в робочому середовищі. Це явище призводить до збільшення коефіцієнту проникності КС дріжджів *S. cerevisiae*. Також радіус пор, який залежать від напруженості електричного поля [128], регулює максимальну кількість прикріпленого магнетиту.

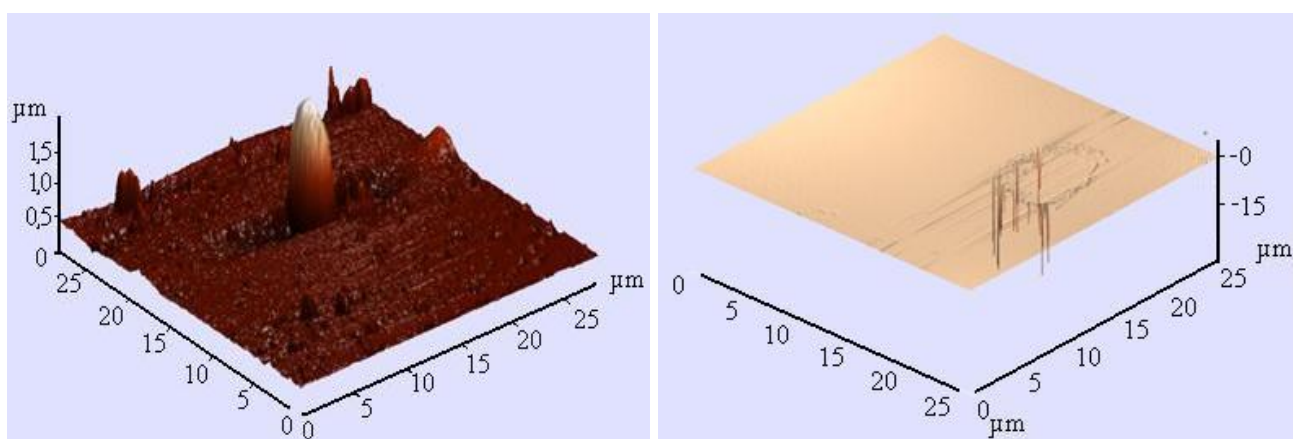
Синтез магнітних міток проводимо за методикою [75], згідно механізму співосадження [129]:



Загальне рівняння синтезу тоді виглядає наступним чином:



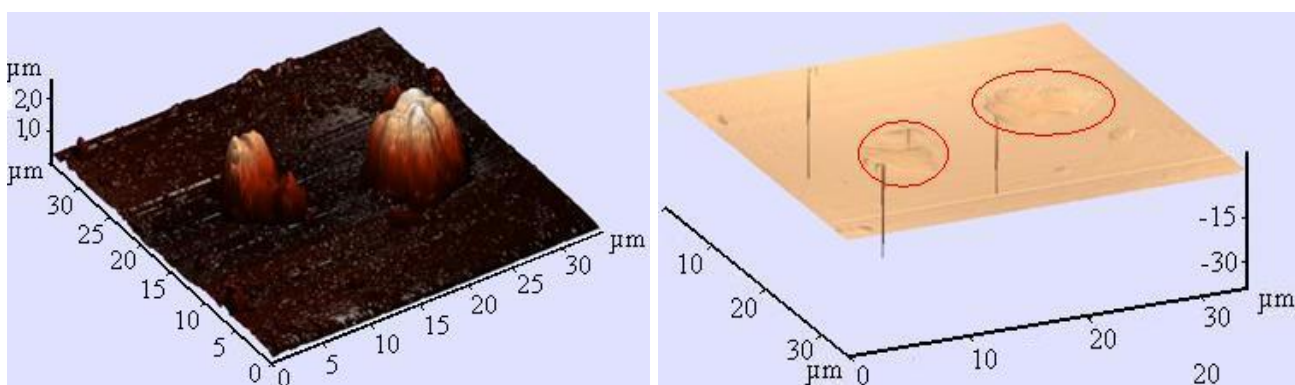
Порівняння кількості прикріпленого магнетиту показано в розділі 4 на рис. 4.1. Проведено порівняння локалізації Fe_3O_4 в магнітомічених комплексах, отриманих методами механічного перемішування (180 хв^{-1}) і багатовихрового МГД перемішування (18 хв^{-1}). Результати зондової мікроскопії представлені на рис. 5.1 і рис. 5.2.



а) АСМ

б) МСМ

Рисунок 5.1 – Магнітомічений біосорбент, отриманий механічним перемішуванням [130]



а) АСМ

б) МСМ

Рисунок 5.2 – Магнітомічений біосорбент, отриманий багатовихрового МГД перемішуванням [130]

Як видно з рис. 5.1 у разі використання механічного перемішування, магнітні мітки в переважній більшості локалізуються на всій поверхні дріжджової клітини. Цей результат добре корелює з подібними дослідженнями, представленими в роботі [131]. На відміну від результату магнітомічення механічним перемішуванням, у випадку багатовихрового МГД перемішування (рис. 5.2), магнетит локалізується в середині КС і не на всій поверхні, а спостерігається в певній області, отже блокує меншу кількість центрів зв'язування для пасивної біосорбції у порівнянні з механічним перемішуванням. Для порівняння кількості прикріпленого магнетиту проведено аналіз АСМ і МСМ. На двовимірних зображеннях АСМ зразків магнітомічених біосорбентів, отриманих механічним або багатовихровим МГД перемішуванням програмним засобом мови С++ відфільтровано шуми (заміною на білий колір) і визначено площу клітин методом Монте-Карло (контур і середина клітин забарвлені в чорний колір). На відповідному двовимірному зображенні МСМ програмним засобом мови С++ відфільтровано магнітний відгук менше 100° - 120° (тобто такий, який не відповідає магнітним міткам з заміною на білий колір) і визначено площу магнітного відгуку. Результати представлено в табл. 5.1.

Таблиця 5.1 – Статистична обробка співставлень АСМ і МСМ

Метод перемішування	Мех.	МГД	Мех.	МГД	Мех.	МГД
Співвідношення мас $m_{мл}/m_{др}$, %	1		2		10	
Кількість клітин	4	4	4	4	4	4
Середня площа магнітної фази МСМ, $\mu\text{м}^2$	$0,2 \pm 0,05$	$0,05 \pm 0,02$	$0,6 \pm 0,1$	$0,2 \pm 0,02$	$2,1 \pm 0,08$	$0,8 \pm 0,02$
Середня площа клітини АСМ, $\mu\text{м}^2$	$10,2 \pm 0,2$	$9,6 \pm 0,2$	$9,8 \pm 0,2$	$10,4 \pm 0,2$	$10,3 \pm 0,2$	$10,1 \pm 0,2$
Відношення площі магнітної фази до площі клітин, %	1,96	0,52	6,1	1,9	20,4	7,9

На рис. 5.3 представлено відому технологію очистки СВ з магнітоміченням [103], і технологію магнітомічення з наступною біосорбцією катіонів ВМ для порівняння.

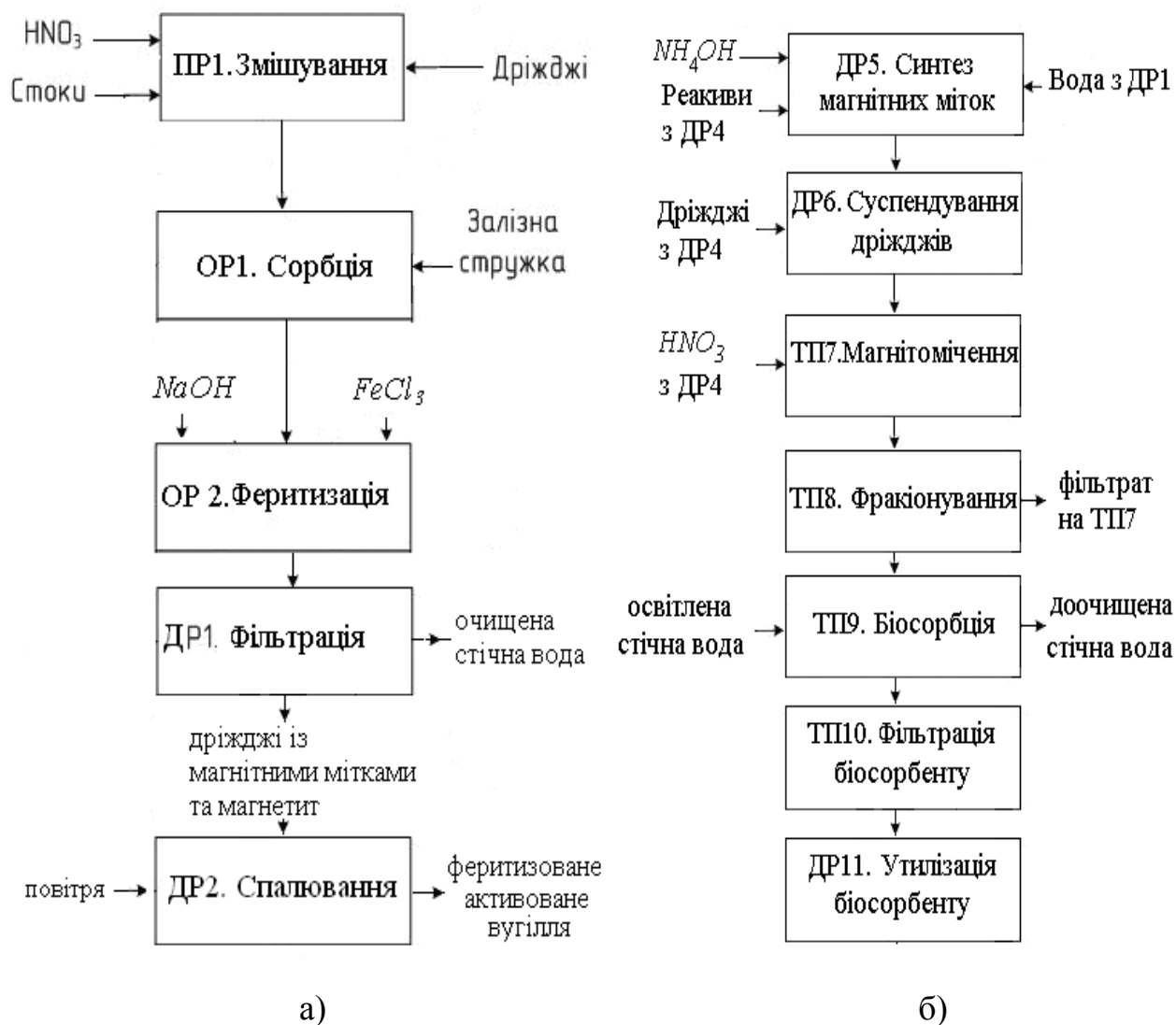


Рисунок 5.3 – Принципові схеми: а) технологія очистки СВ від катіонів ВМ [103]; б) удосконалена технологія

Передбачається, що процес магнітомічення буде передувати процесу біосорбції. Тому однією з задач дослідження було отримати магнітомічений біосорбент з сорбційними характеристиками нативної біомаси. Проведені дослідження з магнітомічення методом багатовихрового МГД перемішування показали, що магнітомічений біосорбент на основі *S. cerevisiae*, отриманий удосконаленим багатовихровим МГД перемішуванням, має СЄ не меншу ніж не

магнітомічений біосорбент 25,5 мг/г АСР біосорбенту. Тому процес магнітомічення раціонально проводити перед процесом біосорбції.

На КОС міста Славутич реалізовано технологію фізико-хімічної очистки СВ потужністю до 30500 м³/добу. Основний процес реагентної обробки СВ коагулянтном і флокулянтном відбувається в паралельно працюючих вертикальних відстійниках робочим об'ємом 367 м³ кожний. Апаратурно-технологічна схема представлена на рис. 5.4. Також на рис. 5.4 показано місце введення магнітоміченого біосорбенту в потік для доочищення СВ від заліза, а також представлено апаратурне рішення для процесу магнітомічення.

Процес біосорбції катіонів ВМ магнітоміченим біосорбентом доцільно проводити після освітлення СВ в відстійниках В43-В46. Відпрацьований біосорбент з відношенням маси міток до маси біосорбенту 1 % видаляється з розчину за допомогою магнітної фільтрації на МС51. Магнітомічений біосорбент з 1 % магнетиту по масі ефективно реагує на магнітне поле. Для вилучення магнітомічених дріжджів після біосорбції в якості ВГФН досліджено сталеву сітку. Для ступінь вилучення магнітомічених дріжджів складає 90 % і 96 % при швидкості пропускання розчину 5 м/с і 1 м/с, відповідно [12]. Продуктивність трубних МС компанії УкрПромМагніт складає до 3000 м³/год і залежить від розміру магнітної фракції (магнітних частинок).

Після фільтрації на ВГМС необхідно утилізувати відпрацьовану біомасу. Утилізація відпрацьованого магнітоміченого біосорбенту поділяється на 2 основні види [36]: не руйнівна і деструктивна. Пропонується обробка осаду після ВГМС розчином NaOH з рН>8. Як відомо, суспензія наномагнетиту змінює свій електрокінетичний потенціал з позитивного в кислих середовищах на негативний при рН>7 (рис. 1.4) [81]. Електростатичне відштовхування між магнітними мітками і КС призведе до руйнування комплексів магнітоміченого біосорбенту. До того ж, магнетит коагулює при підвищеній концентрації NaOH [132] і випаде в осад.

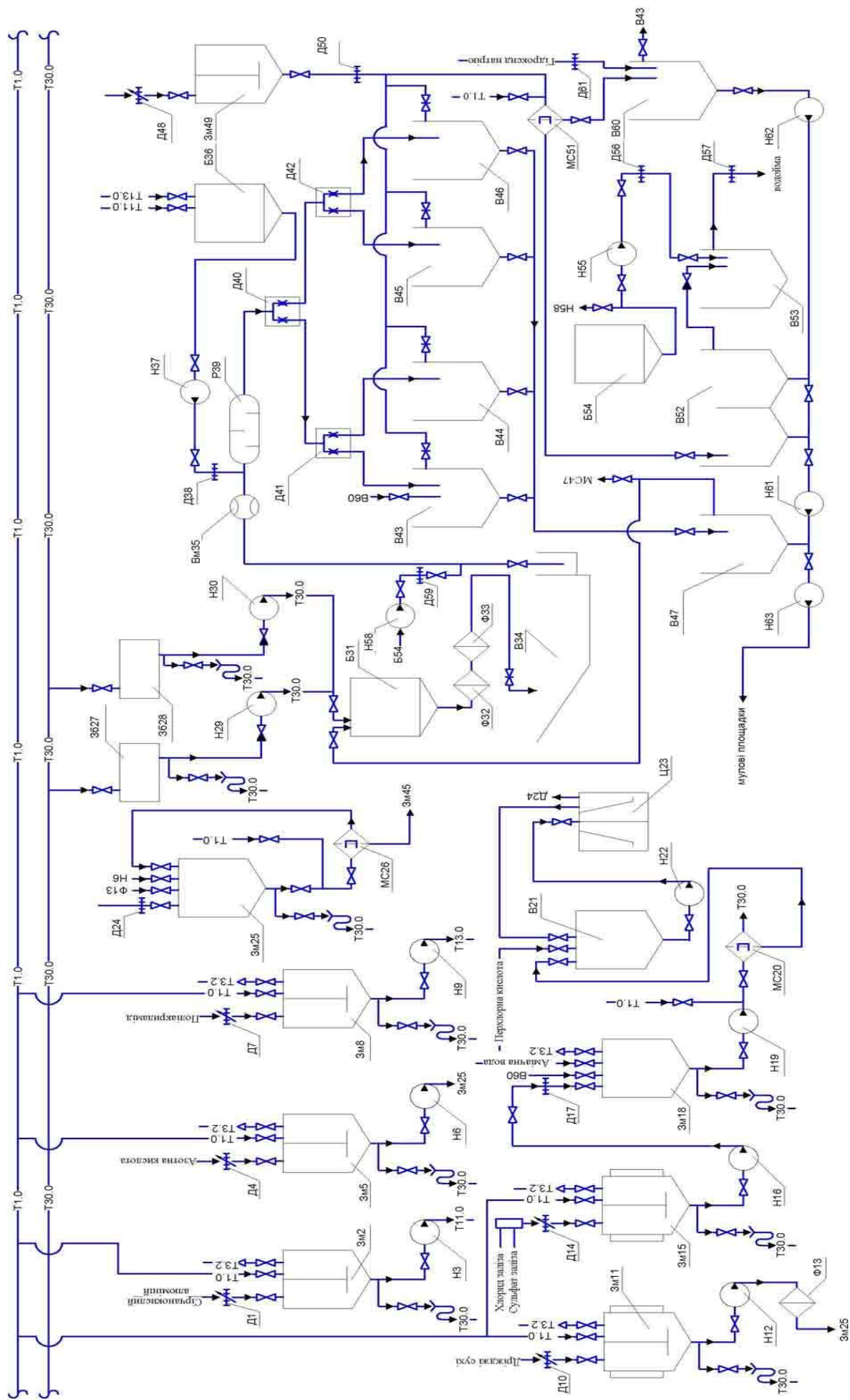
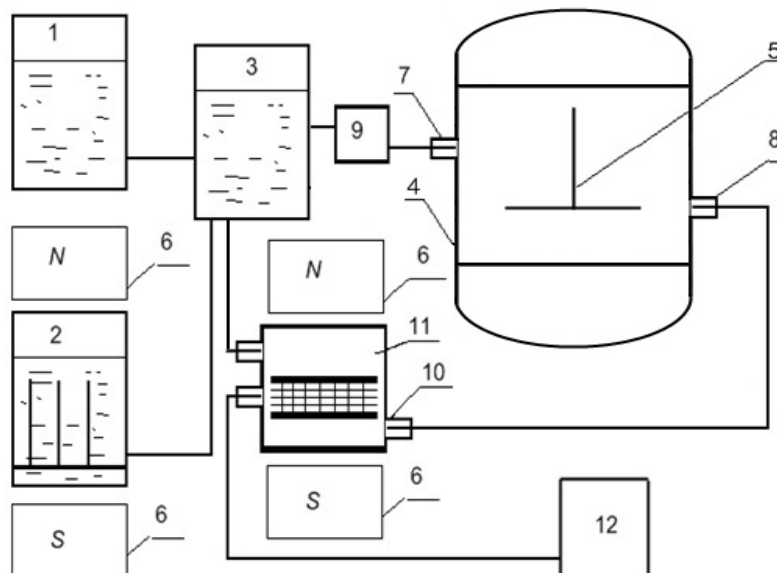


Рисунок 5.4 – Апаратурно-технологічна схема очищення СВ

5.2 Технологічна схема магнітомічення біосорбенту

В ході експериментальних досліджень використано модельну установку, схему якої представлено на рис. 5.5.



1 – ємність з модельним розчином катіонів ВМ, 2 – магнітний сепаратор (фракціонування), 3 – змішувач, 4 – відстійник, 5 – перемішувач, 6 – магнітна система, 7 – вхідний патрубок, 8 – вихідний патрубок, 9 – пристрій для передавлювання, 10 – патрубок, 11 – ВГМС, 12 – збірник

Рисунок 5.5 – Принципова схема модельної установки для біосорбції катіонів ВМ

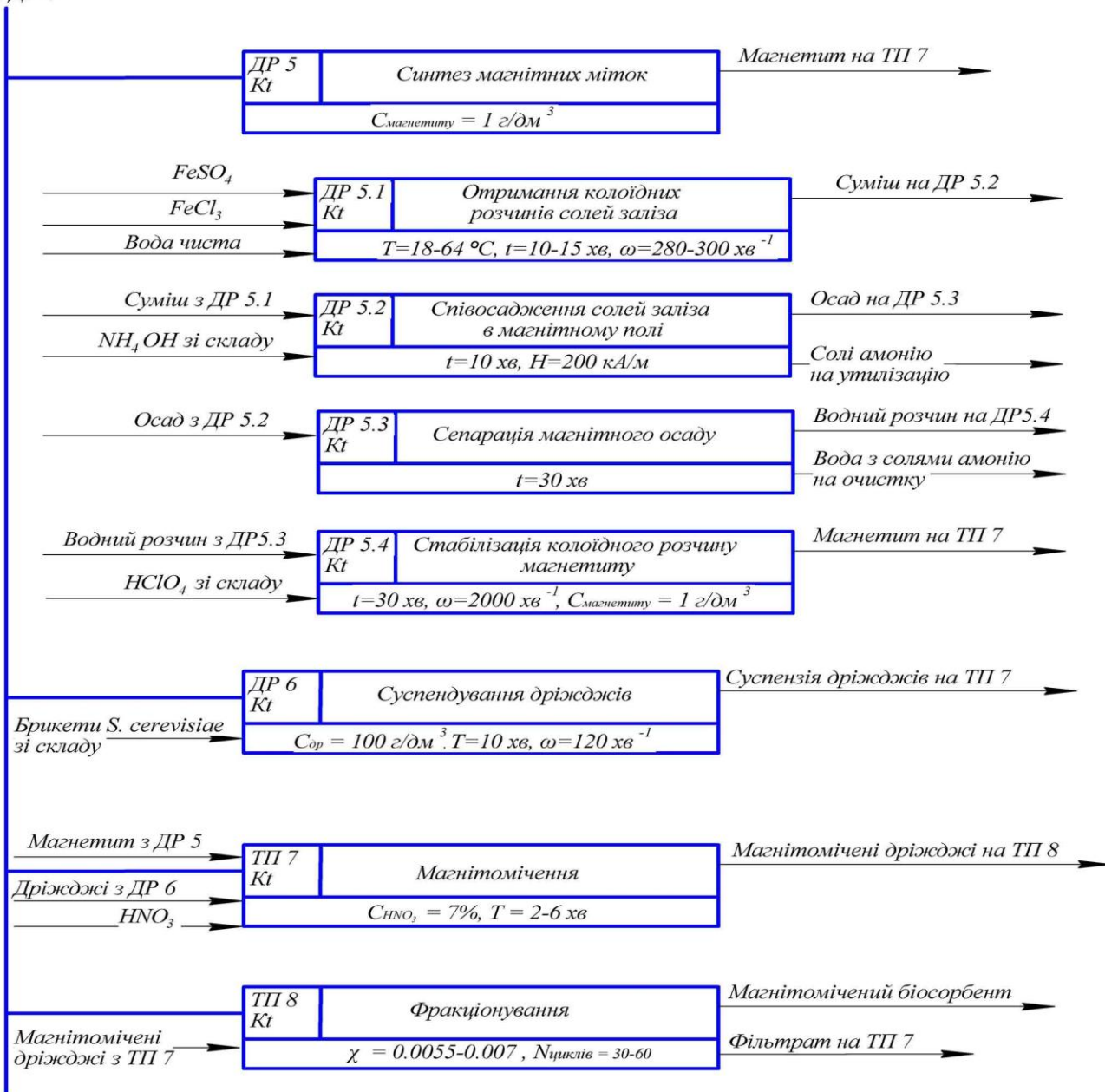
На основі результатів досліджень розроблено технологічну схему виготовлення магнітомічених дріжджів за допомогою багатовихрового МГД перемішування, яка представлена на рис. 5.6. Допоміжні роботи 1-4 на рис. 5.6 не представлені, до них входять: допоміжні роботи з підготовки приміщень і повітря, персоналу, технологічного одягу, технологічного обладнання і води.

Технологічно процес магнітомічення включає наступні основні стадії: синтез магнітних міток, суспендування дріжджів, магнітомічення дріжджів, фракціонування на ВГМС магнітомічених комплексів.

Вода питна надходить на виробництво централізовано і проходить додаткову підготовку. Оскільки основним субстратом для виробництва магнітоміченого

біосорбенту є дріжджі *S. cerevisiae*, то до води висуваються ті ж самі вимоги, що діють і на дріжджовому виробництві для технологічної води.

Від ДР 4



До ТП 9

Рисунок 5.6 – Технологічна схема отримання магнітоміченого біосорбенту

Синтез магнітних міток

Отримання колоїдних розчинів солей заліза

Зважують наважки солей $\text{FeSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ і $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ у співвідношенні 1:2 по залізу і подають через дозатор Д14. Наважку $\text{FeSO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ переносять в змішувач Зм15 і розчиняють в дистильованій воді з температурою 60-64 °С. Наважку

$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ розчиняють в змішувачі Зм15 в дистильованій воді 18-20 °С. Отриманий розчин солей інтенсивно перемішують 10-15 хв при 280-300 хв^{-1} .

Співосадження солей заліза в магнітному полі

Аміачну воду подають в змішувач Зм16, який встановлено на кругових качалках, які розміщені в робочому просторі електромагніту. Встановлюють напруженість поля 160-200 кА/м. В розчин аміаку при постійному перемішуванні ламінарним потоком вносять суміш солей через дозатор Д17. Результуючий розчин тримають в постійному магнітному полі для синтезу магнітних комплексів протягом 10 хв.

Сепарація магнітного осаду

Фільтрують отриманий розчин через магнітний сепаратор МС20 та видаляють супернатант, який містить сульфат амонію і хлорид амонію. Отриманий магнітний осад промивають водою очищеною і залишають на 5-30 хв в відстійнику В21. Після осадження видаляють надосадову рідину. Процедуру повторюють тричі в В21.

Стабілізація колоїдного розчину магнетиту

Після промивання до осаду в В21 додають 0,7 М розчин перхлорної кислоти HClO_4 та центрифугують в Ц23 30 хв при 2000 хв^{-1} . Супернатант відділяють в колбу. Концентрацію магнетиту контролюють за оптичною густиною. Розчин переносять з колби і зберігають в хімічно стійкій каністрі без доступу світла.

Приготування розчину дріжджів.

Дріжджі надходять і зберігаються в герметичній тарі, паперових мішках з вкладеними всередину поліетиленовими мішками. Складське приміщення для їх зберігання повинно бути сухим, чистим, вентильованим з температурою всередині складу не вище 15 °С. Дріжджі хлібопекарські пресовані надходять, як правило, охолодженими до температури 0-4 °С у вигляді загорнутих у папір брусків по 0,5 або 1,0 кг. Дріжджі – продукт, що швидко псується, тому зберігають їх у холодильних камерах або шафах при температурі від 0 до 4 °С з відносною вологістю не вище 75 %. Гарантований термін зберігання – 12 діб. Охолоджені дріжджі певний час зберігають якість. У процесі зберігання дріжджів

при більш високій температурі відбувається автоліз дріжджових клітин. Допускається зберігання змінного або добового запасу пресованих дріжджів в умовах цеху. Рекомендується мати запас пресованих дріжджів на 3 доби.

Підготовка дріжджів до виробництва

Підготовка пресованих дріжджів до виробництва полягає у звільненні їх від упаковки, грубому подрібненні та отриманні дріжджової суспензії при співвідношеннях дріжджів і технологічної води 1:3 або 1:4 в 3м11. Температура суспензії підтримується на рівні 26-32 °С, але не вища 37 °С. Суспензію готують у ємкості з мішалкою 3м11. Перед подачею на виробництво дріжджову суспензію необхідно пропустити крізь сито Ф13 з отворами не більше 2,5 мм.

Магнітомічення

Суспензію дріжджів кратними розведеннями доводять до концентрації 10 г/дм³. Послідовним додаванням HNO₃ через Н6 зменшують рН до 2,5. Колоїдний розчин магнітних міток кратними розведеннями в колбах доводять до робочої концентрації 0,1-0,2 г/дм³. Змішують розчин магнітних міток і суспензію дріжджів з співвідношенням маси наномагнетиту до маси АСР дріжджів 1:100 в 3м25. Отриману суміш в проточному реакторі піддають багатовихровому МГД перемішуванню. Реактор з немагнітного матеріалу з магнітною насадкою знаходиться в магнітній системі. Напруженість зовнішнього магнітного поля в робочу зазорі встановлюють на 240 кА/м. Тривалість перемішування залежить від витрати суміші в межах 2-6 хв.

Фракціонування магнітоміченого біосорбенту

Технологія магнітомічення передбачає фракціонування суспензії магнітомічених дріжджів. Магнітна фракція з магнітною сприйнятливістю в межах $(5,5-7) \cdot 10^{-3}$ вловлюється на ВГФН у МС26, а діамагнітні компоненти (не мічені клітини, а також зруйновані клітини дріжджів і клітини з недостатньою магнітною сприйнятливістю) направляються на повторне магнітомічення багатовихровим МГД перемішуванням. Циклічність процесів багатовихрового МГД перемішування і фракціонування пояснюється економічною доцільністю – використання оборотного розчину азотної кислоти для підтримання рН 2,5

робочого середовища. Швидкість, а отже і інтенсивність багатовихрового МГД перемішування значно залежать від в'язкості робочого середовища. В ході експериментальних досліджень ємності ВГФН і циклічного використання багатовихрового МГД перемішування для магнітомічення встановлено, що на ВГМС після вимкнення електромагнітну і промивання досягається концентрація суспензії магнітомічених дріжджів не менше 4 г/дм^3 .

Біосорбція

Після фракціонування в магнітному сепараторі МС26 перекривається подача суспензії магнітомічених дріжджів, електромагніт відключається і відкривається подача питної води. Імобілізований магнітомічений біосорбент відмивається від ВГФН в ємність Зм49. Суспензія магнітоміченого біосорбенту із Зм49 подається дозатором Д50 в кільцевий лоток відстійника В46. Як правило, СВ має рН нейтральне або слабо лужне. Температурний режим для СВ – $20 \text{ }^\circ\text{C}$. Тривалість контакту потоку СВ з біосорбентом – 5-10 хв в залежності від витрати СВ і завантаження насадки ВГМС МС51 сорбентом. Для практичних застосувань магнітомічений біосорбент з відсотковим співвідношенням маси магнітних наноміток до маси клітин 1 % має СЄ по відношенню до катіонів заліза 230 мг/г .

Фільтрація біосорбенту

Магнітомічений біосорбент має достатню магнітну сприйнятливність (не менше $55 \cdot 10^{-4}$) для утримання в робочому середовищі магнітного сепаратора МС51 з ВГФН у вигляді металевої сітки з питомою поверхнею $100\text{-}500 \text{ м}^2/\text{м}^3$. Відпрацьований магнітомічений біосорбент видаляється з магнітного сепаратора після насичення. Для цього вимикають електромагніт (або відкривають кришку з постійним магнітом) і промивають ВГМС водою від мулоущільнювача В47 об'ємом 1-3 робочі об'єми сепаратора для видалення завантаженої біомаси з ВГФН. Відпрацьований магнітомічений біосорбент вимивається у відстійник В60, де осідає під дією сил тяжіння. Осаджена біомаса направляється на утилізацію – обробку гідроксидом натрію.

Установка для багатовихрового МГД перемішування Зм25 і фракціонатор МС26 зображені на рис. 5.7.

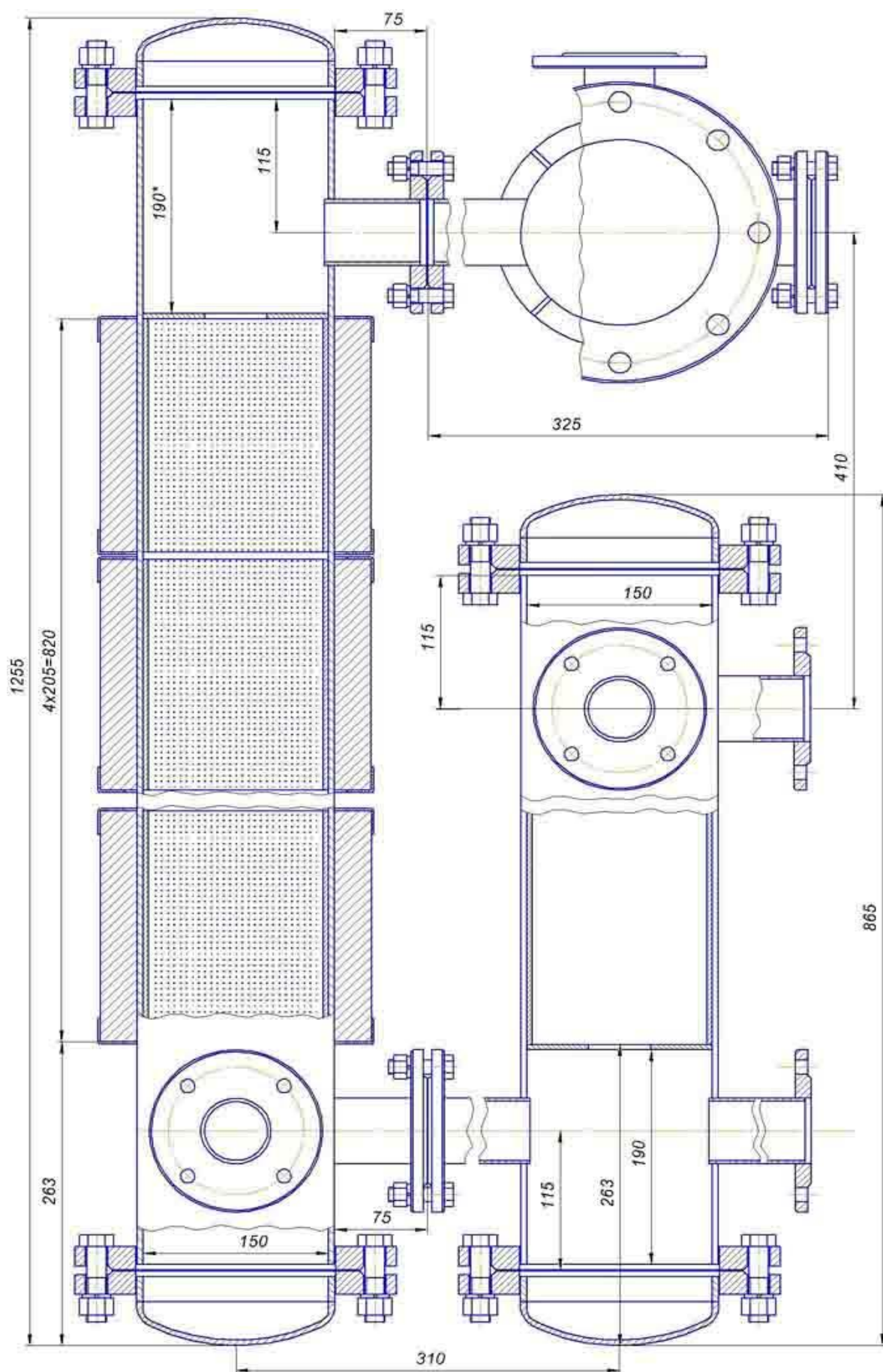


Рисунок 5.7 – Установка магнітомічення і фракціонування біосорбенту(вид зверху)

Технічна характеристика установки

1. Установка призначена для магнітомічення біосорбенту	
2. Потужність, м ³ /год	0.042
3. Тиск, МПа	
робочий	0.1
при стерилізації	0.3
4. Температура, °С	
робоча	20
стерилізації	140
5. Початкова концентрація біомаси, мг/дм ³	50
6. Ступінь очищення, %	95
7. Напруженість магнітного поля, кА/м	
на магніті	1200
на ВГФН	240
8. Габаритні розміри, мм	
довжина	1255
ширина	610
висота	365
9. Маса установки, кг	
в зібраному стані:	
без магнітної системи	37,5
з магнітною системою	177

5.3 Характеристика магнітоміченого біосорбенту

Магнітомічений біосорбент представляє собою суспензію клітин модифікованих прикріпленням магнітних міток до КС за допомогою багатовихрового МГД перемішування. Технологічні характеристики магнітомічених дріжджів наступні:

- відношення маси магнітних міток до маси дріжджів – 1 %;

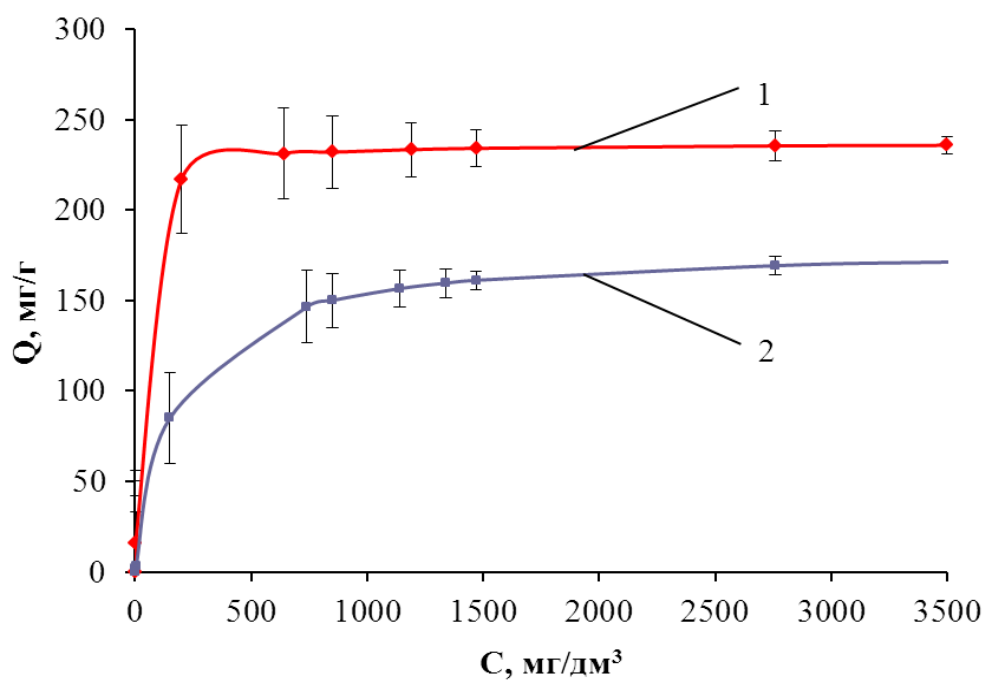
- СЕ по катіонах:
 - міді Cu^{2+} – 25,5 мг/г АСР;
 - заліза Fe^{2+} – 250 мг/г АСР;
- магнітна сприйнятливність – $5,5 \cdot 10^{-3}$ – $7 \cdot 10^{-3}$;
- оптимальне рН при біосорбції – 5,0–5,5;
- тривалість зберігання – 24 год.

Параметри процесу виготовлення магнітомічених дріжджів (багатовихрове МГД перемішування):

- напруженість зовнішнього магнітного поля – 240–280 кА/м;
- рН робочого середовища – 2,5–3,0;
- тривалість виготовлення (циклу) – 2 хв.

Дослідження процесу сорбції проводили на зразках СВ, які відбирали після процесів механічної очистки, усереднення і освітлення фізико-хімічними методами. Для порівняння досліджено очищення модельних зразків розчинів сульфату заліза в дистильованій воді (рис. 4.10). Початкова концентрація іонів заліза в СВ змінювалась в межах 1,0-2,0 мг/дм³ з середнім значенням за 10 днів 1,74 мг/дм³. Біосорбцію магнітоміченими дріжджами на модельних зразках проводили при механічному перемішуванні 120 хв, оскільки така тривалість процесу обумовлена технологічними особливостями очисних споруд, а саме – тривалість освітлення СВ у вертикальних відстійниках об'ємом 367 м³.

На рис. 5.8 представлено ізотерми сорбції магнітоміченими біосорбентами іонів заліза із проб СВ. Згідно рівняння Ленгмюра був розрахований максимальний рівень видалення іонів заліза: магнітоміченим біосорбентом, виготовленим методом багатовихрового МГД перемішування, – 230 мг/г біосорбенту натуральної вологості, магнітоміченим біосорбентом, виготовленим механічним перемішуванням, – 170 мг/г біосорбенту натуральної вологості, що відповідає максимальному рівню видалення катіонів [12].



1 – багатовихрове МГД перемішування, 2 – механічне перемішування

Рисунок 5.8 – Ізотерми сорбції з СВ іонів заліза магнітоміченими біосорбентами у разі різних методів магнітомічення ($p \leq 0,05$)

На основі отриманих результатів (рис. 5.8 і рис. 4.10) можна провести порівняння ефективності магнітомічених біосорбентів, виготовлених різними методами перемішування і зробити висновок, що максимальна СС по катіонах Fe^{2+} згідно моделі Ленгмюра магнітоміченого біосорбенту у разі прикріплення магнітних наноміток Fe_3O_4 до дріжджів методом багатовихрового МГД перемішування (230 ± 10 мг/г АСР з СВ і 250 ± 10 мг/г АСР з модельних розчинів) більше порівняно з СС магнітоміченого біосорбенту, отриманого механічним перемішуванням (170 ± 5 мг/г АСР з СВ і 220 ± 5 мг/г АСР з модельних розчинів) [12].

В умовах СВ очисних споруд для знезалізнення використовуються коагулянти [12], наприклад гідроксилхлорид алюмінію, які дають залишкову концентрацію заліза на рівні $0,7-1$ мг/дм³. Використання магнітомічених дріжджів концентрацією 4 г/дм³ з гідроксилхлоридом алюмінію концентрацією 100 мг/дм³ дає кращі результати, а саме: через 2 год сорбції залишкова концентрація катіонів заліза становить величину, меншу за $0,1$ мг/дм³, тобто менше за ГДК [12].

При проведенні сорбції іонів ВМ магнітоміченим біосорбентом в умовах

очисних споруд, для зниження економічних затрат, з одного боку, необхідно зменшувати кількість біосорбенту, що використовується, а з іншого боку, чим менша кількість сорбенту, тим менша ймовірність контакту магнітомічених клітин з катіонами, і відтак тим менша ефективність вилучення металу зі СВ. В термінах електрокінетичного потенціалу можливо пояснити необхідну кількість внесених магнітомічених дріжджів в СВ, а також кількість сорбованих катіонів металів. У випадку зменшення рН середовища від нейтрального до сильно кислого, зменшується і електрокінетичний потенціал [10] магнітомічених дріжджів, а СЄ магнітоміченого біосорбенту найбільша при рН 5,5 і зменшується при віддаленні від цього значення рН. В нейтральному середовищі магнітомічені дріжджі володіють достатньо високим електрокінетичним потенціалом і достатньою СЄ для видалення катіонів заліза. Також на основі електрокінетичного потенціалу розраховано кількість центрів зв'язування, а відтак оцінено необхідну концентрацію магнітоміченого біосорбенту.

5.4 Матеріальний баланс і техніко-економічні показники

Розрахунок потужності виробництва

Комунальні очисні споруди міста Славутич розраховані на потужність 30500 м³/добу. На теперішній час на кожний з 8 вертикальних відстійників для освітлення СВ приходить в середньому 2000 м³/добу тобто 250 м³/год. Розрахунок пілотного проекту виконаємо для потужності доочистки 1 % від потужності вертикального відстійника, тобто $P_{роб} = 2,5$ м³/год. Після вертикальних відстійників (рис. 5.4) освітлена СВ переливається через зубчатий водозлив в збірний кільцевий лоток і відводиться самопливом по трубі діаметром 600 мм, довжина труби – 200 м, час перебування СВ у трубі – 2 хвилини. Магнітомічений біосорбент вноситься дозатором в кінці кільцевого лотку для доочищення. Концентрація заліза в СВ після відстійника коливається в межах 1,0–2,0 мг/дм³ і в середньому складає 1,33 мг/дм³ (згідно даних спостережень тривалістю 10 діб). Згідно проведених досліджень, 1 об'ємну частину кожного зразка магнітомічених

дріжджів з'єднували зі 99 частинами СВ [12]. Робоча концентрація магнітоміченого біосорбенту складає 0,01 частину від концентрації суспензії на виході з фракціонатору. Таким чином витрата магнітоміченого біосорбенту для доочищення СВ:

$$B_{BM} = \Pi_{роб} \cdot C_{ФР} / 100 = 2,5 \cdot 4 / 100 = 0,1 \text{ кг} / \text{год}.$$

Робоча концентрація магнітомічених дріжджів в процесі біосорбції в СВ:

$$C_{BM} = \frac{B_{BM}}{\Pi} = \frac{0,1}{2,5} = 0,04 \text{ кг} / \text{м}^3 = 0,04 \text{ г} / \text{дм}^3 = 0,01 \text{ г АСР} / \text{дм}^3.$$

Максимальна кількість заліза загального в освітленій СВ:

$$B_{Fe} = \Pi_{роб} \cdot C_{Fe} = 2,5 \cdot 2,0 \cdot 10^{-3} = 5,0 \text{ г} / \text{год}.$$

СЄ магнітоміченого біосорбенту по залізу загальному в такому випадку:

$$Q = \frac{B_{Fe}}{B_{BM}} = \frac{5,0}{0,1 \cdot 0,261} = 191,6 \text{ г} / \text{кг АСР} = 191,6 \text{ мг} / \text{г АСР}.$$

Максимальна СЄ магнітомічених дріжджів по катіонах заліза складає 250 мг/г, тобто СЄ магнітомічених дріжджів в такому випадку використовується на 76,6 %. Після видалення з потоку СВ магнітоміченого біосорбенту існує можливість використати його повторно в 1 циклі.

Матеріальний баланс

Матеріальний баланс виробництва магнітоміченого біосорбенту:

$$C_{FeCl_3} + C_{FeSO_4} + C_{NH_4OH} + C_{HClO_4} + C_{HNO_3} + C_в + C_{ор} = C_{BM} + C_{III} + C_{ЗЛ} + C_{BT}.$$

Для потужності виробництва пілотного проекту 2,4 кг/добу матеріальний баланс і показники по статтям представлені в табл. 5.2.

Втрати складають:

$$C_{BT} = 67411,85 - 67365,5 = 46,35 \text{ г}.$$

Втрати пов'язані з перебігом реакції копреципітації під час отримання Fe_3O_4 . В якості біомаси дріжджі обрано пресовані хлібопекарські дріжджі *S. cerevisiae* виробництва компанії «Ензим».

Калькуляція собівартості магнітоміченого біосорбенту потужністю 2,4 кг/добу. Вартість продукту – суспензії магнітоміченого біосорбенту

складається з вартості сировини (табл. 5.3), електроенергії (табл. 5.4), амортизації (табл. 5.4) і витратних матеріалів (табл. 5.5).

Таблиця 5.2 – Матеріальний баланс

Прихід			Витрата		
№	Статті приходу	Кількість,г	№	Статті витрат	Кількість,г
1	C_{FeCl_3} ($FeCl_3 \cdot 6H_2O$)	15,48	1	$C_{БМ}$ (розчин біосорбенту)	3030
2	C_{FeSO_4} ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$)	8,52	2	$C_{ЗЛ}$: $(NH_4)SO_4$ і NH_4Cl	69,5
3	C_{NH_4OH} (NH_4OH)	45,5	3	Повторно: C_{III}	
4	C_{HClO_4} ($HClO_4$)	70,35		Розчин HNO_3	47466
5	C_{HNO_3} (HNO_3)	72		Вода(оборотна)	16800
6	C_e (H_2O)	64800			
7	C_{op} (<i>S. cerevisiae</i>)	2400			
	Разом	67411,85		Разом	67365,5

Таблиця 5.3 – Вартість сировини

Сировина	$FeCl_3$	$FeSO_4$	NH_4OH	$HClO_4$	HNO_3	H_2O	Дріжджі
Ціна, грн/кг	37,00	25,00	8,00	871,20	76,70	0,003	51,20
Маса, кг	0,01548	0,00852	0,0455	0,0071	0,072	64,8	2,4
Ціна, грн	0,57276	0,213	0,364	6,18552	5,5224	0,1944	122,88

Сумарна вартість сировини на виробництво 1 серії магнітоміченого біосорбенту $C_c = 135,932$ грн.

Вартість електроенергії

Електроенергія витрачається на нагрівання води, роботу центрифуг і електромагніту, а також перемішуючих пристроїв. Вартість електроенергії – 180,961 коп/(кВт·год). Також в табл. 5.4 показано додатково відрахування на амортизацію.

Таблиця 5.4 – Витрати електроенергії і амортизація, і їх вартість

№ п/п	Прилад	Потужність, кВт	Тривалість, год	Витрати, грн.	Амортизація, грн
1	Ваги AXIS ANG 200C	0,006	24	0,32	4,83
2	Шейкер орбітальний SH-3	0,002	8	16,19	2,45
3	Перемішувачий пристрій Daihan HS-50 A	0,085	8	1,53	2,82
4	Центрифуга Dastan ОПН-12	0,45	6	6,07	4,60
5	Холодильник Vestfrost Solutions AKG 317	0,726	24	39,17	3,9
6	Магнітна мішалка РІВА-03.1	0,03	8	0,54	1,0
		1,2	2	5,40	
7	Насос, 4 шт. LX SWIM150M	6	2	26,98	1,32
	Разом			80,05	20,92

Магнітна мішалка РІВА-03.1 оснащена тепловим елементом конструкції для нагріву колб з розчинами, цей елемент споживає електроенергію незалежно від рушійного електромагніту перемішувачого пристрою. Амортизація для обладнання розрахована на 10-15 років використання.

Вартість витратних матеріалів представляє собою витрати на допоміжні роботи, які забезпечують проведення основних технологічних операцій.

Сумарна вартість витратних матеріалів на виробництво магнітоміченого біосорбенту $C_B = 0,105$ грн. Собівартість магнітоміченого біосорбенту на основі дріжджів є сумою всіх витрат, які зазначені вище. Загальна сума витрат на виробництво 1 серії магнітоміченого біосорбенту масою 2,4 кг:

$$C_{BM} = C_C + C_E + C_A + C_{II} = 135,932 + 80,05 + 20,92 + 0,105 = 237,64$$

Таблиця 5.5 – Витратні матеріали і лабораторний посуд.

№ п/п	Найменування	N, шт	Вартість		Вартість на 1 серію БМ
			грн/од	грн	грн
1	Колба для реактивів з притертою пробкою, вузька горловина, темне скло	4	26,7	106,8	0,089
2	Воронки ділильні грушоподібні	2	90,0	180	0,15
3	Каністра 10 л	8	36,0	288	0,24
4	Засоби індивідуального захисту	3	600,0	1800	0,15
5	Миючі засоби Ultima і Multisperl	2	63,24	126,4	0,105

Ціна 1 кг магнітоміченого біосорбенту:

$$C_{БМ}^* = C_{БМ} / 2,4 = 237,64 / 2,4 = 99,02 \text{ грн} / \text{кг}$$

Ціна відомих сорбентів для видалення металів варіює від 60 грн/кг для «Сорбент МС» до 291,6 грн/кг для «Organic Multisorb». Тож магнітомічений біосорбент є конкурентоздатним продуктом.

Висновки до розділу 5

1. Запропонована технологічна схема виробництва магнітоміченого біосорбенту катіонів заліза на основі удосконаленого методу багатовихрового МГД перемішування.

2. Розраховано основні техніко-економічні характеристики процесу магнітомічення для пілотного проекту доочищення СВ від катіонів заліза.

3. Вдосконалено технологію виготовлення магнітоміченого біосорбенту для видалення катіонів ВМ з СВ шляхом оптимізації параметрів багатовихрового МГД перемішування і складу магнітоміченого біосорбенту. Технологія виготовлення магнітоміченого біосорбенту базується на оптимальних параметрах багатовихрового МГД перемішування і оптимальних сорбційних характеристиках біосорбенту. Вартість продукту виробництва магнітоміченого біосорбенту на основі дріжджів *S. cerevisiae* знаходиться в діапазоні цін відомих сорбентів для очистки СВ від металів.

ВИСНОВКИ

1. Розроблено метод виготовлення магнітоміченого біосорбенту за допомогою багатовихрового МГД перемішування суспензії *S. cerevisiae* і колоїдного розчину Fe_3O_4 . Метод МГД перемішування забезпечує ефективне видалення біомаси з стічних вод із одночасним збереженням сорбційної ємності магнітомічених *S. cerevisiae* на рівні нативних (25,5 мг Cu^{2+} /г).

2. Доведено, що збільшення магнітної сприйнятливості магнітомічених клітин *S. cerevisiae* призводить до зменшення їх сорбційної ємності по катіонах Cu^{2+} за рахунок збільшення питомої кількості Fe_3O_4 і розподілу дзета-потенціалу суспензії.

3. Встановлено, що збільшення абсолютної величини електрокінетичного потенціалу суспензії магнітомічених *S. cerevisiae* і зменшення відносної маси магнетиту в комплексах «магнітні мітки-дріжджова клітина» проявляється у збільшенні сорбційної ємності по катіонах Cu^{2+} .

4. Визначено раціональні параметри багатовихрового МГД перемішування для виготовлення магнітоміченого біосорбенту: рН 2,5, напруженість постійного магнітного поля – 240 кА/м, тривалість – 2 хв, а питома маса нанорозмірного магнетиту в біосорбенті – 1%.

5. Максимальна сорбційна ємність магнітомічених *S. cerevisiae* по катіонах Cu^{2+} збільшується на 21% при зменшенні тривалості багатовихрового МГД перемішування з 10 хв до 2 хв. Досягнуто ступені вилучення магнітоміченим біосорбентом катіонів Cu^{2+} – 94 %, а Fe^{2+} – 90 %.

6. Досягнуто максимально ефективного видалення біосорбенту (до 96%) з стічних вод на магнітному сепараторі за рахунок магнітної сприйнятливості суспензії *S. cerevisiae* – $(55-70) \cdot 10^{-4}$ з питомою масою магнітних міток в біосорбенті 1–10%, відповідно.

7. Вдосконалена технологія виготовлення магнітоміченого біосорбенту є перспективною для впровадження в промислове очищення металовмісних стічних вод.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Національна доповідь про стан навколишнього природного середовища в Україні у 2014 році [Електронний ресурс] / Київ: Міністерство екології та природних ресурсів України, ФОП Грінь Д.С. – 2016. – 350 с. – Режим доступу: menr.gov.ua/news/31171.html.
2. Volesky B. Biosorption of heavy metals [Text] // Boston: CRC Press., 1990. – 408 p.
3. Tian Y. Preparation and characterization of baker's yeast modified by nano- Fe_3O_4 : application of biosorption of methyl violet in aqueous solution [Text] / Y. Tian, C. Ji, M. Zhao et al. // Chemical Engineering Journal. – 2010. – Vol. 165. – № 2. – P. 474-481.
4. Patzak M. Development of magnetic biosorbents for metal uptake [Text] / M. Patzak, P. Dostalek, R.V. Fogarty et al. // Biotechnology Techniques. – 1997. – Vol. 11. – № 7. – P. 483-487.
5. Baldikova E. PMAA-stabilized ferrofluid/chitosan/yeast composite for bioapplications [Text] / E. Baldikova J. Prochazkova, M. Stepanek et al. // Journal of Magnetism and Magnetic Materials. – 2017. – Vol. 427. – P. 29-33.
6. Nishida K. Induction of biogenic magnetization and redox control by a component of the target of rapamycin complex 1 signaling pathway [Text] / K. Nishida, P.A. Silver // PLoS biology. – 2012. – Vol. 10. – № 2. – P. e1001269.
7. Bar'yakhtar V. Velocity distribution in electrolyte in the vicinity of a metal cylinder in a steady magnetic field [Text] / V. Bar'yakhtar, Y. Gorobets, O. Gorobets // Journal of magnetism and magnetic materials. – 2004. – № 272. – P. 2410-2412.
8. Горобець С.В. Інтенсифікація сорбційної здатності дріжджів *S. cerevisiae* за допомогою багатовихрового магнітогідродинамічного перемішування [Текст] / С.В. Горобець, Ю.В. Карпенко // Електроніка та зв'язок. – 2009. – Т. 1. – № 49-50 (2-3). – С. 191-195.
9. Горобець С.В. Використання магнітомічених дріжджів *S. cerevisiae* для вилучення іонів міді [Текст] / С.В. Горобець, Ю.В. Карпенко, Л.В. Маринченко //

Вісник Донецького національного університету – Серія А. Природничі науки. – 2010. – № 1. – С. 230-236.

10. Karpenko Y.V. Electrophoretic mobility magnetically labeled yeast cells *S. cerevisiae* [Text] / Y.V. Karpenko, S.V. Gorobets // J. Functional Materials. – 2012. – Vol. 19 – № 3. – P. 362-369.

11. Горобець С.В. Визначення оптимальних характеристик магнітоміченого біосорбенту на основі дріжджів *Saccharomyces Cerevisiae* [Текст] / С.В. Горобець, Н.О. Михайленко, Ю.В. Карпенко // Хімія, фізика та технологія поверхні. – 2013. – Т. 4. – № 2. – С. 219-225.

12. Горобець С.В. Застосування магнітомічених клітин *S. cerevisiae* як біосорбенту на очисних спорудах [Текст] / С.В. Горобець, Ю.В. Карпенко, О.В. Ковальов, В.В. Олішевський // Наукові вісті НТУУ «КПІ». – 2013. – № 3. – С. 42-47.

13. Gorobets S. The development of a magnetically operated biosorbent based on the yeast *saccharomyces cerevisiae* for removing copper cations Cu^{2+} [Text] / S. Gorobets, Y. Karpenko // Eastern-European Journal of Enterprise Technologies. – 2017. – Vol. 1. – № 6 (85). – P. 28-34.

14. Karpenko Y. Study of modification of magnetically labeled yeasts *Saccharomyces cerevisiae* for copper cations Cu^{2+} removal [Text] / Y. Karpenko // Technology audit and production reserves. – 2017. – Vol. 1. – № 3(33). – P. 45-49.

15. Duffus J.H. “Heavy metals” – a meaningless term? (IUPAC Technical Report) [Text] / Pure Appl. Chem. – 2002. – Vol. 74. – № 5. – P. 793-807.

16. Sharma R. Biological effects of heavy metals: an overview [Text] / R. Sharma., M. Agrawal // Journal of environmental Biology. – 2005. – Vol. 26. – №. 2. – P. 301-313.

17. Safarik I. Magnetically responsive biological materials and their applications [Text] / I. Safarik, K. Pospiskova, E. Baldikova, M. Safarikova // Advanced Materials Letters. – 2016. – Vol. 7. – №. 4. – P. 254-261.

18. Volesky B. Biosorption of heavy metals [Text] / B. Volesky, Z. R. Holan // Biotechnology progress. – 1995. – Vol. 11. – P. 235-250.

19. Kapoor A. Fungi biosorption – an alternative treatment option for heavy metal

bearing wastewaters: a review [Text] / A . Kapoor, T. Viraraghavan // *Bioresource Technol.* – 1995. – Vol. 53. – P. 195-206.

20. Wang J. Biosorption of heavy metals by *Saccaromyces cerevisiae* [Text] / J. Wang, C. Chen // *Biotechnology Advances.* – 2006. – Vol. 24. – № 5. – P. 427-451.

21. Wang J. Biosorbents for heavy metals removal and their future [Text] / J. Wang, C. Chen // *Biotechnology Advances.* – 2009. – Vol. 27. – № 6. – P. 195-226.

22. Ambashta R.D. Water purification using magnetic assistance: A review [Text] / R.D. Ambashta, M. Sillanpaa // *Journal of Hazardous Materials.* – 2010. – Vol. 180. – P. 38-49.

23. Stanescu A.M. Physicochemical characterization and use of heat pretreated commercial instant dry baker's yeast as a potential biosorbent for Cu (II) removal [Text] / A.M. Stanescu, L. Stoica, C Constantin et al. // *CLEAN–Soil, Air, Water.* – 2014. – Vol. 42. – № 11. – P. 1632-1641.

24. Yu G. Carbon nanotubes, graphene, and their derivatives for heavy metal removal [Text] / G. Yu, Y. Lu, J. Guo et al. // *Adv Comp and Hybrid Materials.* – 2017. – P. 1-23.

25. Baldikova E. Magnetically modified bacterial cellulose: A promising carrier for immobilization of affinity ligands, enzymes, and cells [Text] / E. Baldikova, K. Pospiskova, D. Ladakis et al. // *Materials Science and Engineering: C.* – 2017. – Vol. 71. – P. 214-221.

26. Esposito A. pH-related equilibria models for biosorption in single metal systems [Text] / A. Esposito, F. Pagnanelli, F. Veglio // *Chem. Eng. Sci.* – 2002. – Vol. 57. – P. 307-313.

27. Eide D. J. The molecular biology of metal ion transport in *Saccharomyces cerevisiae* [Text] // *Annu. Rev. Nutr.* – 1998. – Vol. 18. – P. 441-469.

28. Kim T.Y. Adsorption of heavy metals by brewery biomass [Text] / T.Y. Kim, S.K. Park, S.Y. Cho et al. // *Korean J. Chem. Eng.* – 2005. – Vol. 22. – № 1. – P. 91-98.

29. Davis T.A. A review of the biochemistry of heavy metal biosorption by brown algae [Text] / T.A. Davis, B. Volesky, A. Mucci // *Water Res.* – 2003. – Vol. 37. – P. 4311-4330.

30. Лозова О. Г. Дріжджі – сорбенти деяких іонів важких металів [Текст]: автореф. дисертації на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.07 / НАН України, ІМіВ ім. Д.К. Заболотного. – К., 2004. – 20с.

31. Marques P.A.S.S. pH effects on the removal of Cu^{2+} , Cd^{2+} and Pb^{2+} from aqueous solution by waste brewery biomass [Text] / P.A.S.S. Marques, M.F. Rosa, H.M. Pinheiro // *Bioprocess and Biosystems Engineering*. – 2000. – Vol. 23. – № 2. – P. 135-141.

32. Flynn S.L. Modeling bacterial metal toxicity using a surface complexation approach [Text] / S.L. Flynn, J.E.S. Szymanowski, J.B. Fein // *Chemical Geology*. – 2010. – Vol. 374. – P.110-116.

33. Malik A. Metal bioremediation through growing cells [Text] / A. Malik // *Environ. Int.* – 2004. –Vol. 30. – P. 261-278.

34. Tsezos M. Biosorption of metals. The experience accumulated and the outlook for technology development [Text] / *Hydrometallurgy*. – 2001. – Vol. 59. – P. 241-243.

35. Safarik I. Magnetically modified microbial cells: A new type of magnetic adsorbents [Text] / I. Safarik, M. Safarikova // *China Particuology*. – 2007. – Vol. 5. – № 1. – P. 19-25.

36. Park D. The past, present, and future trends of biosorption [Text] / D. Park, Y.S. Yun, J.M. Park // *Biotechnol Bioprocess Eng.* – 2010. – Vol. 15. – P. 86-102.

37. Gorobets S. Intensification of the process of sorption of copper ions by yeast of *Saccharomyces cerevisiae* 1968 by means of a permanent magnetic field [Text] / S. Gorobets, O. Gorobets, A. Ukrainetz et al. // *Journal of Magnetism and Magnetic Materials*. – 2004. – Vol. 272-276. – P. 2413-2414.

38. Amirnia S. Heavy metals removal from aqueous solutions using *Saccharomyces cerevisiae* in a novel continuous bioreactor–biosorption system [Text] / S. Amirnia, M.B. Ray, A. Margaritis // *Chemical Engineering Journal*. – 2015. – Vol. 264. – P. 863-872.

39. Fakhrullin R.F. A direct technique for preparation of magnetically functionalised living yeast cells [Text] / R.F. Fakhrullin, J. Garcia-Alonso, V.N. Paunov // *Soft Matter*. – 2010. – Vol. 6. – № 2. – P. 391-397.

40. Naja G. The mechanism of metal cation and anion biosorption [Text] / G. Naja, B. Volesky // *Microbial biosorption of metals*. Springer Netherlands. – 2011. – P. 19-58.

41. Abbas S.H. Biosorption of heavy metals: a review [Text] / S.H. Abbas, I.M. Ismail, T.M. Mostafa, A.H. Sulaymon // *Journal of Chemical Science and Technology*. – 2014. – Vol. 3. – № 4. – P. 74-102.

42. Abdel-Ghani N.T. Biosorption for metal ions removal from aqueous solutions: a review of recent studies [Text] / N.T. Abdel-Ghani, G.A. El-Chaghaby // *Int J Latest Res Sci Technol*. – 2014. – Vol. 3. – № 1. – P. 24-42.

43. Volesky B. Cadmium biosorption by *Saccharomyces cerevisiae* [Text] / B. Volesky, H. May, Z.R. Holan // *Biotechnology and Bioengineering*. – 1993. – Vol. 41. – № 8. – P. 826-829.

44. Jentschke G. Metals toxicity and ectomycorrhizas [Text] / G. Jentschke, D.L. Goldbold // *Physiologia plantarum*. – 2000. – Vol. 109. – P. 107-116.

45. Ho Y.S. Review of second-order models for adsorption systems [Text] // *Journal of hazardous materials*. – 2006. – Vol. 136. – № 3. – P. 681-689.

46. Wright P.R. Batch uptake of lysozyme: effect of solution viscosity and mass transfer on adsorption [Text] / P.R. Wright, F.J. Muzzio, B.J. Glasser // *Biotechnology progress*. – 1998. – Vol. 14. – № 6. – P. 913-921.

47. Febrianto J. Equilibrium and kinetic studies in adsorption of heavy metals using biosorbent: a summary of recent studies / J. Febrianto, A.N. Kosasih, J. Sunarso et al. // *Journal of hazardous materials*. – 2009. – Vol. 162. – № 2. – P. 616-645.

48. Физическая химия, поверхностные явления и дисперсионные системы: Учебное пособие [Текст] / Л.Р. Пальтиель, Г.С. Зенин, Н.Ф. Вольнец // С.-П.:СЗТУ. – 2004. – 69 с.

49. Parvathi K. Biosorption of chromium from effluent generated in chrome-electroplating unit using *Saccharomyces cerevisiae* [Text] / K. Parvathi, R. Nagendran // *Separation Science and Technology*. – 2007. – Vol. 42. – P. 625-638.

50. Ho Y.S. Citation review of Lagergren kinetic rate equation on adsorption reactions [Text] / Y.S. Ho // *Scientometrics*. – 2004. – Vol. 59. – № 1. – P. 171-177.

51. Gavrilesco M. Removal of heavy metals from the environment by biosorption

[Text] // Engineering in Life Sciences. – 2004. – Vol. 4. – № 3. – P. 219-232.

52. Kratochvil D. Advances in the biosorption of heavy metals [Text] / D. Kratochvil, B. Volesky // Trends in biotechnology. – 1998. – Vol. 16. – №7. – P. 291-300.

53. Veglio F. Removal of metals by biosorption: a review [Text] / F. Veglio, F. Beolchini // Hydrometallurgy. – 1997. – Vol. 44. – № 3. – P. 301-316.

54. Yang J. Biosorption of uranium on Sargassum biomass [Text] / J. Yang, B. Volesky // Water Research. – 1999. – Vol. 33. – № 15. – P. 3357-3363.

55. Yadav K.K. Bioremediation of Heavy Metals From Contaminated Sites Using Potential Species: A Review [Text] / K.K. Yadav, N. Gupta, V. Kumar, J.K. Singh // Indian Journal of Environmental Protection. – 2017. – Vol. 37. – № 1. – P.65-84.

56. Hussein H. Biosorption of heavy metals from waste water using Pseudomonas sp. [Text] / H. Hussein, S.F. Ibrahim, K. Kandeel et al. // Electronic Journal of Biotechnology. – 2004. – Vol. 7. – № 1. – P. 1-8.

57. Brady D. Biosorption of heavy metal cations by non-viable yeast biomass [Text] / D. Brady, A. Stoll, J.R. Duncan // Environmental Technology. – 1994. – Vol. 15. – № 5. – P. 429-438.

58. Das N. Biosorption of heavy metals—an overview [Text] / N. Das, R. Vimala, P. Karthika // Indian Journal of Biotechnology. – 2008. – Vol. 7. – № 2. – P. 159-169.

59. Francois J.M. Use of atomic force microscopy (AFM) to explore cell wall properties and response to stress in the yeast *Saccharomyces cerevisiae* [Text] / J.M. Francois, C. Formosa, M. Schiavone et al. // Current genetics. – 2013. – Vol. 59. – № 4. – P. 187-196.

60. Machado M.D. Removal of heavy metals using a brewer's yeast strain of *Saccharomyces cerevisiae*: advantages of using dead biomass [Text] / M.D. Machado, S.Janssens, H.M. Soares, E.V. Soares // J Appl Microbiol. – 2009. – Vol. 106. – P. 1792-1804.

61. Mahmoud M.E. A novel cellulose-dioctyl phthate-baker's yeast biosorbent for removal of Co (II), Cu (II), Cd (II), Hg (II) and Pb (II) [Text] / M.E. Mahmoud, A.A. Yakout, M.T. Abed El Aziz et al // Journal of Environmental Science and Health, Part A. – 2015. – Vol. 50. – №. 10. – P. 1072-1081.

62. Jayatissa M. Role of Wall Phosphomannan in Flocculation of *Saccharomyces cerevisiae* [Text] / M. Jayatissa, A.H. Rose // *Journal of General Microbiology*. – 1976. – Vol. 96. – P. 165-174.

63. Лозовая О. Г. Поиск биосорбентов тяжелых металлов среди дрожжей различных таксономических групп [Текст] / О. Г. Лозовая, Т. П. Касаткина, В.С. Подгорский // *Мікробіологічний журнал*. – 2004. – Т. 66. – № 2. – С. 92-101.

64. Bustard M. Biosorption of heavy metals by distillery-derived biomass [Text] / M. Bustard, A.P. McHale // *Bioprocess Eng.* – 1998. – Vol. 19. – P.351-353.

65. Yavuz H. Biosorption of mercury on magnetically modified yeast cells [Text] / H. Yavuz, A. Denizli, H. Güngüneş et al. // *Separation and Purification Technology*. – 2006. – Vol. 52. – № 2. – P. 253-260.

66. Ghorbani F. Application of response surface methodology for optimization of cadmium biosorption in an aqueous solution by *Saccharomyces cerevisiae* [Text] / F. Ghorbani, H. Younesi, S.M. Ghasempouri et al. // *Chemical Engineering Journal*. – 2008. – Vol. 145. – № 2. – P. 267-275.

67. Van Wyk C.S. Removal of heavy metals from metal-containing effluent by yeast biomass [Text] / C.S. Van Wyk // *African Journal of Biotechnology*. – 2011. – Vol. 10(55). – P. 11557-11561.

68. Калебина Т.С. Роль белков в формировании молекулярной структуры клеточной стенки дрожжей [Текст] / Т.С. Калебина, И.С. Кулаев // *Успехи биологической химии*. – 2001. – Т. 41. – С. 105-130.

69. Dhankhar R. Fungal biosorption – an alternative to meet the challenges of heavy metal pollution in aqueous solutions [Text] / R. Dhankhar, A. Hooda // *Environmental technology*. – 2011. – Vol. 32. – № 5. – P. 467-491.

70. Коновалов С.А. Биохимия дрожжей [Текст] / С.А. Коновалов // М.:Пищевая пром-сть, 1980. – 271 с.

71. Аронбаев С. Д. Биосорбция тяжелых металлов клеточными оболочками дрожжей *saccharomyces cerevisiae* [Текст] / С. Д. Аронбаев, А. М. Насимов, Д. М. Аронбаев // *Всерос-й журнал науч. пуб-й* – 2011. – № 3. – С. 13-15.

72. Albert T. Electric double layer interactions in bacterial adhesion to surfaces

[Text] / T. Albert, R. Bos, W. Norde, H.J. Busscher // Surface Science Reports. – 2002. – Vol. 47. – P. 1-32.

73. Hanotu J. Harvesting and dewatering yeast by microflotation [Text] / J. Hanotu, E. Karunakaran, H. Bandulasena, C. Biggs, W. B. Zimmerman // Biochemical Engineering Journal. – 2014. – Vol. 82. – P. 174-182.

74. Ким Н. М. Поверхностные явления и дисперсные системы. Коллоидная химия: Учебное пособие [Текст] // Кемерово:КузГТУ, 2005. – 84 с.

75. Massart R. Preparation of aqueous magnetic liquids in alkaline and acidic media [Text] / IEEE transactions on magnetics. – 1981. – Vol. 17. – № 2. – P. 1247-1248.

76. Riggio C. Poly-l-lysine-coated magnetic nanoparticles as intracellular actuators for neural guidance [Text] / C. Riggio, M. P. Calatayud, C. Hoskins et al. // International journal of nanomedicine. – 2012. – Vol. 7. – P. 3155.

77. Рубин А. Б. Биофизика [Текст] // М.:«Мир», 1987. – Т. 1. – 443с.

78. Li D. Electrokinetics in Microfluidics [Text] // Academic Press., 2004. – 652p.

79. Технологія спирту [Текст] / наук. ред. Маринченко В.О. – Вінниця: «Поділля-2000», 2003. – 496 с.

80. Amory D.E. Flocculence of brewery yeasts and their surface properties: chemical composition, electrostatic charge and hydrophobicity [Text] / D.E. Amory, P.G. Rouxhet // J. Inst. Brew. – 1988. – Vol. 94. – P. 79-84.

81. Schwegmann H. Influence of the zeta potential on the sorption and toxicity of iron oxide nanoparticles on *S. cerevisiae* and *E. coli* [Text] / H. Schwegmann, A.J. Feitz, F.H. Frimmel // Journal of Colloid and Interface Science. – 2010. – Vol. 347(1). – P. 43-48.

82. Yang S.H. Interfacing Living Yeast Cells with Graphene Oxide Nanosheaths [Text] / S.H. Yang, T. Lee, E. Seo et al. // Macromol. Biosci. – 2012. – V. 12. – P. 61-66.

83. Liu Y. Adsorption of heavy metals by EPS of activated sludge [Text] / Y. Liu, M.C. Lam, H.H.P. Fang // Water Sci. Technol. – 2001. – Vol. 43. – P. 59-66.

84. Flemming H.C. Relevance of microbial extracellular polymeric substances (EPSs)-Part I: Structural and ecological aspects [Text] / H.C. Flemming, J. Wingender // Water science and technology. – 2001. – Vol. 43. – № 6. – P. 1-8.

85. Ying W. Extracellular polymeric substances (EPS) in a hybrid growth

membrane bioreactor (HG-MBR): viscoelastic and adherence characteristics [Text] / W. Ying, F. Yang, A. Bick et al. // *Environmental science & technology*. – 2010. – Vol. 44. – № 22. – P. 8636-8643.

86. Pirog T.P. Exopolysaccharides synthesis on industrial waste [Text] / T.P. Pirog, M.O. Ivakhniuk, A.A. Voronenko // *Biotechnologia Acta*. – 2016. – Vol.9. – №2. – P.7-18.

87. Safarikova M. Cyclodextrin glucanotransferase synthesis by semicontinuous cultivation of magnetic bio catalysts from cells of *Bacillus circulans* ATCC 21783 [Text] / M. Safarikova, N. Atanasova, V. Ivanovac, F. Weydad, A. Tonkova // *Process Biochemistry*. – 2007. – Vol. 42. – P.1454-1459.

88. Jun-Xia Yu A simple method to prepare magnetic modified beer yeast and its application for cationic dye adsorption [Text] / Yu Jun-Xia, L.Y. Wang, R.A. Chi et al. // *Environ Sci Pollut Res*. – 2013. – Vol. 20. – P. 543-551.

89. Tian Y. Preparation and characterization of baker's yeast modified by nano- Fe_3O_4 : application of biosorption of methyl violet in aqueous solution [Text] / Y. Tian, C. Ji, M. Zhao et al. // *Chem Eng J*. – 2010. – Vol. 165. – P. 474-481.

90. Li H. A novel technology for biosorption and recovery hexavalent chromium in wastewater by bio-functional magnetic beads [Text] / H. Li, Z. Li, T. Liu et al. // *Bioresour. Technol*. – 2008. – Vol. 99. – P. 6271-6279.

91. Vert M. Terminology for biorelated polymers and applications (IUPAC Recommendations 2012) [Text] / Vert M., Y. Doi, K.H. Hellwich et al. // *Pure and Applied Chemistry*. – 2012. – Vol. 84. – № 2. – P. 377-410.

92. Safarikova M. Biosorption of water-soluble dyes on magnetically modified *Saccharomyces cerevisiae* subsp. *uvarum* cells [Text] / M. Safarikova, L. Ptackova, I. Kibrikova, I. Safarik // *Chemosphere*. – 2005. – Vol. 59. – P. 831-835.

93. Dauer R.R. High-gradient magnetic separation of yeast [Text] / R. R. Dauer, E. H. Dunlop // *Biotechnology and Bioengineering*. – 1991. – Vol. 37. – P. 1021-1028.

94. Bahaj A.S. Extraction of heavy metals using microorganisms and high gradient magnetic separation [Text] / A.S. Bahaj, D.C. Ellwood, J.H.P. Watson // *IEEE Transactions on Magnetics*. – 1991. – Vol. 27. – P. 5371-5374.

95. Qiu Y. One-step preparation of nano- Fe_3O_4 modified inactivated yeast for the

adsorption of patulin [Text] / Y. Qiu, H. Guo, C. Guo et al. // Food Control. – 2017. – Vol. 86. – P. 310-318.

96. Safarik I. Adsorption of dyes on magnetically labeled baker's yeast cells [Text] / I. Safarik, L. Ptackova, M. Safarikova // European Cells and Materials. – 2002. – Vol. 3. – № 2. – P. 52-55.

97. Amirnia S. Adsorption of mixtures of toxic metal ions using non-viable cells of *saccharomyces cerevisiae* [Text] / S. Amirnia, A. Margaritis, M.B. Ray // Adsorption Science & Technology. – 2012. – Vol. 30. – № 1. – P. 43-63.

98. Gorobets S.V. Stationary flows of liquid in the vicinity of the small ferromagnetic particles in constant homogeneous magnetic field [Text] / S.V. Gorobets, O.Yu. Gorobets, N.P. Bandurka // The Physics of Metals and Metallography, Suppl. 1. – 2001. – Vol. 92. – P.197-198.

99. Xiang Yu Complex magnetohydrodynamic low-Reynolds-number flows [Text] / Yu Xiang, H. Bau // Phys. Rev. – 2003. – E 68. P. 016312.

100. Qin M. When MHD-based microfluidics is equivalent to pressure-driven flow [Text] / M. Qin, H. H. Bau // Microfluidics and nanofluidics. – 2011. – Vol. 10. – № 2. – P. 287-300.

101. Kabbani H. Modeling RedOx-based magnetohydrodynamics in three-dimensional microfluidic channels [Text] / H. Kabbani, A. Wang, X. Luo, S. Qian // Physics of Fluids. – 2007. – Vol. 19. – № 8. – P. 083604.

102. Gorobets S. Magnetohydrodynamic mixer of an electrolyte solution [Text] / S. Gorobets, O. Gorobets, I. Goyko, S. Mazur // physica status solidi (c) – 2004. – Vol. 1. – № 12. – P. 3455-3457.

103. Гойко І.Ю. Інтенсифікація сорбції іонів міді та хрому дріжджами *Saccharomyces cerevisiae* в магнітному полі [Текст]: Автореферат дисертації на здобуття наукового ступеня кандидата технічних наук за спеціальністю 03.00.20 / НАН України НУХТ. – К., 2008. – 16 с.

104. Vijayaraghavan K. Biosorption of nickel (II) ions onto *Sargassum Wightii*: Application of two- and three parameter isotherm models [Text] / K. Vijayaraghavan, T.V.N. Padnesh, K. Palanivelu, M. Velan // J. Hazard. Mater. – 2006. – Vol. 133. –

P. 304-308.

105. Bishnoi N.R. Fungus – an alternative for bioremediation of heavy metal containing wastewater: a review [Text] / N. R. Bishnoi, A. Garima // J. Sci. Ind. Res. – 2005. – Vol. 64. – P. 93-100.

106. Robinson T. Remediation of dyes in textile effluent: a critical review on current treatment technologies with a proposed alternative [Text] / T. Robinson, G. McMullan, R. Marchant, P. Nigam // Bioresour. Technol. – 2001. – Vol. 77. – P. 247-255.

107. Surpateanu M. Microwave-assisted chemistry. A review of environmental applications [Text] / M. Surpateanu, C. Zaharia, G. G. Surpateanu // Environmental Engineering and Management Journal. – 2007. – Vol. 6. – № 6. – P. 521-527.

108. Kumari K. Biosorption of anionic textile dyes by nonviable biomass of fungi and yeast [Text] / K. Kumari, T. E. Abraham // Bioresource Technology. – 2007. – Vol. 98. – № 9. – P. 1704-1710.

109. Ramesh Babu B. Textile Technology – Cotton Textile Processing: Waste Generation and Effluent Treatment [Text] / B. Ramesh Babu, A.K. Parande, S. Raghu, T. Kumar // J. Cotton Sci. – 2007. – Vol. 11. – P. 141-153.

110. Горобець С.В. Самоорганізація наночастинок магнетиту при наданні магнітних властивостей дріжджам *Saccharomyces cerevisiae* [Текст] / С.В. Горобець, О.Ю. Горобець, І.В. Дем'яненко // Наукові вісті НТУУ «КПІ». – 2011. – № 3. – С. 27-33.

111. Gorobets S.V. Wastewater purification from cuprum (II) ions by magnetically operated biosorbent using high-gradient ferromagnetic fields [Text] / S.V. Gorobets, O.Y. Gorobets, O.K. Dvoynenko, N.O. Mykhailenko // Naukovi visti NTUU-KPI. – 2010. – Vol. 3. – P. 21-25.

112. Державна фармакопея України. Доповнення 2 [Текст] // Харків: ДП НЕФЦ. – 2008. – 617 с.

113. Ремизов А.Н. Медицинская и биологическая физика [Текст] // М:Высшая школа, 1996. – 608 с.

114. Евстапов А.А. Физические методы управления движением и разделением микрочастиц в жидких средах. Часть 1. Диэлектрофорез, фотофорез,

оптофорез, оптический пинцет [Текст] / Научное приборостроение. – 2005. – Т. 15. – № 1. – С. 8-21.

115. Пешков В.М. Методы абсорбционной спектроскопии [Текст] // М.:Высшая школа, 1976. – 280 с.

116. КНД 211.1.4.034-95 «Методика фотометричного визначення загального заліза з ортофенантроліном в поверхневих і стічних водах» [Текст] // Київ, 1995. – 10 с.

117. Двойненко О.К. Дослідження магнітної сприйнятливості дрібнодисперсних порошків на основі Fe і Fe₃O₄ [Текст] / О. К. Двойненко, С. В. Горобець, Ю. О. Кузнєцов, О. Ю. Горобець // Вісник ДНУ Сер. А: Природничі науки. – 2014. – № 1. – С. 169-173.

118. Kushnirov V. V. Rapid and reliable protein extraction from yeast [Text] // Yeast. – 2000. – Vol. 16. – № 9. – P. 857-860.

119. Tobin J.M. Investigation of the mechanism of metal uptake by denatured *Rhizopus arrhizus* biomass [Text] / J.M. Tobin, D.G. Cooper, R.J. Neufeld // Enzyme and Microbial Technology. – 1990. – Vol. 12. – № 8. – P. 591-595.

120. Azevedo R.B. Morphological study of *Saccharomyces cerevisiae* cells treated with magnetic fluid [Text] / R. B. Azevedo, L.P. Silva, A.P.C. Lemos et al. // IEEE transactions on magnetics. – 2003. – Vol. 39. – № 5. – P. 2660-2663.

121. Ахназарова С.Л., Кафаров В.В. Методы оптимизации эксперимента в химической технологии [Текст] // М.:Высш. школа, 1985. – 327 с.

122. Горобець С.В. Intensification of purification of solutions from ions of heavy metals in a magnetic field [Text] / С. В. Горобець, О. Ю. Горобець, Т. П. Касаткіна, І. Ю. Гойко // Functional Materials. – 2004. – Vol. 11. – №4. – P. 793-797.

123. Патент № 42448 на корисну модель, Україна МПК (2009) C02F 1/42. Спосіб отримання магнітного біосорбенту [Текст] / Горобець С.В., Двойненко О.К., Карпенко Ю.В., u200815002. Заявл. 25.12.2008. Опубл. 10.07.2009, бюл. №13, 2009р. – 4 с.

124. Горобець С.В. Експериментальне дослідження руху *Saccharomyces cerevisiae* та дрібнодисперсних частинок в околі феромагнітних насадок у

постійному магнітному полі [Текст] / С.В. Горобець, А. І. Українець, І. С. Гулий та ін. // Харчова промисловість. – 2000. – №. 45. – С. 149-156.

125. Наумов В.Н. и др. Поверхностные явления и коллоидные системы [Текст] // С.-П., 2007. – 146 с.

126. Пасынский А.Г. Коллоидная химия [Текст] //М: Высшая школа, 1959. – 232 с.

127. Горобець С.В. Очищення стічних вод від іонів купруму (II) магнітокерованим біосорбентом за допомогою високоградієнтних феромагнітних насадок [Текст] / С.В. Горобець, О.Ю. Горобець, О.К. Двойненко, Н.О. Михайленко // Наукові вісті НТУУ «КПІ». – 2010. – № 3. – С. 21-25.

128. DeBruin K. A. Modeling electroporation in a single cell. I. Effects of field strength and rest potential [Text] / K. A. DeBruin, W. Krassowska // Biophysical journal. – 1999. – Vol. 77. – № 3. – P. 1213-1224.

129. Long L.Q. Growth Mechanism and Stability of Magnetite Nanoparticles Synthesized by the Hydrothermal Method [Text] / L.Q. Long, T.T.B. Hue, N.X. Hoan et al. // J. Nanosci. Nanotechnol. – 2016. – Vol. 16. – P.7373-7379.

130. Горобець С.В. Интенсификация сорбционной способности дрожжей *S. cerevisiae* с помощью многовихревого МГДП [Текст] / С.В. Горобець, Ю.В. Карпенко // Біотехнологія. Наука. Освіта. Практика. IV міжнародна науково-практична конференція, м. Дніпропетровськ. – 2008. – с. 74.

131. Gorobets, S.V. Self-organization of magnetite nanoparticles in providing *Saccharomyces cerevisiae* Yeasts with magnetic properties [Text] / S.V. Gorobets, O.Yu. Gorobets, I.V. Demianenko, R.N. Nikolaenko // Journal of Magnetism and Magnetic Materials. – 2013. – Vol. 337-338. – P. 53-57.

132. Blaney L. Magnetite (Fe_3O_4): Properties, Synthesis, and Applications [Text] // Lehigh Review – 2007. – Vol. 15. – P. 5.

ДОДАТКИ

Додаток А

Україна, м. Чернігів, ТОВ «НВП ЕКОСПЕЦПРОМ»
14013, Україна, м. Чернігів, вул. Савчука, 7/27
 (адреса)

від "15" травня 2017 р.
 № 39

Акт

про впровадження результатів дисертації на здобуття наукового ступеня кандидата технічних наук на тему «Біотехнологія магнітомічення дріжджів як біосорбенту катіонів важких металів» Карпенко Ю.В. (науковий керівник д.т.н., проф. Горобець С.В.)

Комісія у складі:

голови комісії – директора ТОВ «НВП ЕКОСПЕЦПРОМ» Фарбак О.М.
 членів комісії – начальника лабораторії Ковальова О.В.

цим актом підтверджують, що в рамках дисертації на здобуття наукового ступеня кандидата технічних наук Карпенка Ю. В. було отримано магнітомічений біосорбент шляхом багатовихрового магнітогідродинамічного перемішування суспензії дріжджів *S. cerevisiae* і суспензії нанорозмірного магнетиту для очищення стічних вод. Отриманий магнітомічений біосорбент з 1 % по масі наномігнетиту Fe_3O_4 має необхідні сорбційні характеристики. Результати випробувань магнітоміченого біосорбенту на основі дріжджів *S. cerevisiae* з концентраціями в межах 0,5-4 г/дм³ на зразках стічних водах представлені в таблиці. Тривалість процесу біосорбції – 1 год.

№ п/п	Концентрація магнітоміченого біосорбенту, г/дм ³	Концентрація загального заліза, мг/дм ³	Концентрація азоту амонійного, мг/дм ³
1	Вихідна проба	1,74	50,4
2	0,5	1,24	44,2
3	1,0	1,00	40,4
4	2,0	0,94	39,7
5	3,0	0,89	36,8
6	4,0	0,44	32,3

Створений магнітомічений біосорбент з концентрацією не менше 1 г/дм³ зменшує концентрацію заліза загального під час біосорбції з стічних вод до значень не більше 1 мг/дм³ за 1 год. Дослідження, які були проведені лабораторією підприємства ТОВ «НВП ЕКОСПЕЦПРОМ» м. Чернігів, магнітоміченого біосорбенту, отриманого методом багатовихрового МГД перемішування, також показали ефективність по видаленню азоту амонійного.

Голова комісії Директор ТОВ «НВП ЕКОСПЕЦПРОМ» Фарбак О.М.

Члени комісії Начальник лабораторії Ковальов О.В.



Додаток Б

Україна, м. Славутич, Київська область, Комунальне підприємство «Управління житлово-комунального господарства», вул. Військових будівельників,8
(адреса)

від "12" травня 2017 р.

№ 31

Акт

впровадження результатів дисертаційної роботи Карпенко Юрія Володимировича

Комісія у складі:

голови комісії – начальника ЛХАК Ковальова О.В.

членів комісії – інженера-лаборанта ЛХАК Косівця О.В.

– лаборанта хімічного аналізу ЛХАК Ярової Л.А.

цим актом підтверджують, що в рамках дисертаційної роботи Карпенко Ю. В. було отримано магнітомічений біосорбент шляхом багатовихрового магнітогідродинамічного перемішування суспензій дріжджів *S. cerevisiae* і нанорозмірного магнетиту для вилучення катіонів важких металів. Отриманий магнітомічений біосорбент з 1 % по масі наномігнетиту Fe_3O_4 має сорбційну ємність рівну сорбційній ємності нативних дріжджів в межах похибки.

Біосорбція магнітоміченими дріжджами *S. cerevisiae* була проведена на зразках дійсних стоків, а результати представлені в таблиці.

Таблиця. Результати вимірювань

№ п/п	Назва зразку	Час відбор у проб	Азот амонійний, мг/дм ³	Залізо загальне, мг/дм ³	Фосфати, мг/дм ³
1.	Стічна вода	12.00	50,4	1,74	6,44
2.	Проба води з додаванням коагулянту ПОЛВАК68, концентрацією 100 мг/дм ³	13.00	46,8	1,33	4,15
3.	Проба води з додаванням магнітомічених дріжджів концентрацією 1 г/дм ³ і коагулянту ПОЛВАК 68, концентрацією 100 мг/дм ³	13.00	32,3	0,44	1,66
4.	Проба води з додаванням магнітомічених дріжджів концентрацією 1 г/дм ³	13.00	34,6	0,82	2,41

Створений магнітомічений біосорбент зменшує концентрацію заліза загального під час біосорбції з стічних вод до концентрацій менше 1 мг/дм³. Дослідження, які були проведені лабораторією підприємства КП «УЖКГ», м. Славутич (Київська область), магнітоміченого біосорбенту, отриманого методом багатовихрового МГД перемішування, показали високу ефективність по видаленню: азоту амонійного, фосфатів, заліза загального.

Голова комісії Начальник ЛХАК

Члени комісії Інженер-лаборант ЛХАК

Лаборант хімічного аналізу ЛХАК



Ковальов О.В.

Косівець О.В.

Ярова Л.А.

Додаток В

Затверджую
Декан факультету біотехнології і біотехніки
Національного технічного університету України
«Київський політехнічний інститут
імені Ігоря Сікорського»



О.М. Дуган
 «25» травня 2017 р.

АКТ

про впровадження результатів дисертації на здобуття наукового ступеня кандидата технічних наук на тему «Біотехнологія магнітомічення дріжджів як біосорбенту катіонів важких металів» Карпенко Ю.В. (науковий керівник д.т.н., проф. Горобець С.В.)

Цим актом підтверджується, що методи і результати наукових досліджень, отримані у рамках дисертаційної роботи Карпенко Ю. В. «Біотехнологія магнітомічення дріжджів як біосорбенту катіонів важких металів» на здобуття ступеня кандидата технічних наук зі спеціальності 03.00.20 – біотехнологія (науковий керівник д.т.н., проф. Горобець С.В.), впроваджено у навчальний процес на кафедрі біоінформатики у вигляді методичних вказівок для лабораторних робіт з дисципліни «Біосепарація» для напряму підготовки 6.051401 «Біотехнологія».


Розроблені лабораторні роботи охоплюють такі методи як багатовихрове магнітогідродинамічне перемішування, аналітичний електрофорез, модель Ленгмюра для моношарової сорбції. В якості експериментальних матеріалів для лабораторних робіт використовуються дріжджі пресовані *Saccharomyces cerevisiae*, нанорозмірний магнетит та ін.

Електронному навчальному виданню «Біосепарація. Методичні вказівки до проведення лабораторних робіт» укладачів Горобець С.В., Маринченко Л.В., Дем'яненко І.В., Карпенка Ю.В. для студентів напряму підготовки 6.051401 «Біотехнологія» спеціальності 7(8).051450102 «Молекулярна біотехнологія» факультету біотехнології і біотехніки надано гриф «Рекомендовано Вченою радою ФБТ» (Протокол № 4 від квітня 2014р.)

Зав.кафедри біоінформатики,
 д.т.н., проф.

 С.В. Горобець

Заст. декана ФБТ
 з навчально-методичної роботи,
 д.б.н., доц.

 О.Ю. Галкін

Zeta Potential Report

v2.2



Malvern Instruments Ltd - © Copyright 2008

Sample Details

Sample Name: 2 1

SOP Name: mansettings.nano

General Notes:

File Name: 30.05.12	Dispersant Name: Water
Record Number: 17	Dispersant RI: 1,330
Date and Time: 30 мая 2012 г. 15:09:49	Viscosity (cP): 0,8872
Dispersant Dielectric Constant: 78,5	

System

Temperature (°C): 25,0	Zeta Runs: 6
Count Rate (kcps): 205,1	Measurement Position (mm): 4,50
Cell Description: Zeta dip cell	Attenuator: 6

Results

	Mean (mV)	Area (%)	Width (mV)
Zeta Potential (mV): -7,33	Peak 1: -30,6	36,1	4,38
Zeta Deviation (mV): 39,1	Peak 2: -18,7	30,9	3,81
Conductivity (mS/cm): 0,00778	Peak 3: -0,522	9,8	3,02

Result quality See result quality report

