Пояснювальна записка до магістерської дисертації

на тему: «Модернізація лабораторного фотобіореактора для дослідження процесу культивування мікроводоростей»

Київ -2019 року

Національний технічний університет України

«Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського»

Факультет біотехнології і біотехніки

Кафедра біотехніки та інженерії

Рівень вищої освіти – другий (магістерський) за освітньо-професійною програмою

Спеціальність (спеціалізація) – 133 «Галузеве машинобудування» («Обладнання фармацевтичних та біотехнологічних виробництв»)

ЗАТВЕРДЖУЮ
Завідувач кафедри
________ В.М.Мельник
(підпис) (ініціали, прізвище)
«23» жовтня 2019 р.

ЗАВДАННЯ

на магістерську дисертацію студенту

Войцеховському Сергію Олександровичу

1. Тема дисертації: «Модернізація лабораторного фотобіореактора для дослідження процесу культивування мікроводоростей», науковий керівник дисертації Мельник Вікторія Миколаївна, затверджені наказом по університету від «07» листопада 2019 р. № 3858-с

2. Термін подання студентом дисертації: 12 грудня 2019

3. Об'єкт дослідження: лабораторний фотобіореактор.

4. Предмет дослідження: вплив конструкції лабораторного фотобіореактора на процес культивування мікроводоростей та розробка нової конструкції апарату.

5. Перелік завдань, які потрібно розробити: провести огляд літератури за темою дисертації; теоретичне дослідження; розробка математичної моделі процесу культивування мірокодоростей; комп'ютерне моделювання конструкції лабораторного фотобіореактора; практична реалізація розробленої конструкції; дослідження економічної доцільності виробництва і реалізації запропонованої конструкції лабораторного фотобіореактора.

6. Орієнтовний перелік ілюстративного матеріалу: Апаратурно-технологічна схема (А1); Лабораторний фотобіореактор. Складальне креслення (А1); 3D-модель лабораторного фотобіореактора – (А1), плакат; Нижня платформа. Складальне креслення (А1); Кришка (Днище) (А2); Штуцер (А2); Моделювання роботи барботера у лабораторному фотобіореакторі – 3 плакати (А1).

7. Орієнтовний перелік публікацій: Водорості як альтернативне джерело енерг використання фотобіореакторів для вирощування водоростей; Використан фільтра тонкої очистки з тканиною Петрянова для стерилізації повітря п культивуванні біологічних агентів;

8. Консультанти розділів дисертації

Розділ	Прізвище, ініціали та посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв
Біотехнологія	Дзигун Л.П., ст. викл.		

9. Дата видачі завдання 02.09.2019

Календарний план

№ з/п	Назва етапів виконання магістерської дисертації	Строк виконання етапів магістерської дисертації	Примітка
1	Огляд літератури; дослідження стану проблеми	02.09.2019-05.11.2019	виконано
2	Теоретичні дослідження; розробка математичної моделі	11.10.2019-19.11.2019	виконано
3	Патентний пошук; розробка конструкції лабораторного фотобіореактора	09.09.2019-13.10.2019	виконано
4	Проведення комп'ютерного моделювання; оформлення результатів експерименту	11.11.2019-04.12.2019	виконано
5	Практична реалізація; розроблення технічної документації на лабораторний фотобіореактор	02.11.2019-28.11.2019	виконано
6	Розроблення стартап-проекту	07.11.2019-07.12.2019	виконано
7	Оформлення пояснювальної записки, креслень та документації	09.09.2019-07.12.2019	виконано
8	Підготовка до захисту	08.12.2019-17.12.2019	виконано

Студент _____________ Войцеховський С.О.

Науковий керівник дисертації _____________ Мельник В.М.

Реферат

Магістерська робота на здобуття освітньо-кваліфікаційного рівня «магістр» на тему «Модернізація лабораторного фотобіореактора для дослідження процесу культивування мікроводоростей» / НТУУ «КПІ імені Ігоря Сікорського». Керівник д.т.н., Мельник В.М. Виконавець Войцеховський С.О., студент групи БІ-81 мп.

Робота складається з: 4 аркушів креслень на перерахунок формату А1, 4 плакатів формату А1 та пояснювальної записки. Пояснювальна записка складається з переліку умовних позначень, вступу, шести розділів, висновку, переліку посилань та додатків. Повний обсяг роботи становить 112 сторінок формату А4, 58 рисунків, 5 таблиць, 1 діаграми і перелік посилань з 49 найменувань.

В магістерській дисертації проведено комп'ютерне моделювання роботи барботера та навантаження корпуса апарата внутрішнім тиском в середовищі ANSYS та математичне моделювання дослідження росту мікроводоростей. За результатами моделювань була спроектована оптимізована конструкція лабораторного фотобіореактора для дослідження процесу культивування мікроводоростей для забезпечення технічних умов. Також була розроблена *3D* модель у програмі SolidWorks.

У магістерській дисертації наведені розрахунки, що підтверджують працездатність та надійність конструкції спроектованого лабораторного фотобіореактора для дослідження процесу вирощування мікроводоростей, надані рекомендації щодо монтажу та експлуатації.

Всі розрахунки та креслення виконані згідно чинних стандартів та з використанням сучасних системних та інформаційних технологій.

КЛЮЧОВІ СЛОВА: ЛАБОРАТОРНИЙ ФОТОБІОРЕАКТОР,

МОДЕЛЮВАННЯ, КУЛЬТИВУВАННЯ, М1КРОВОДОРОСТІ.

Abstract

Master's work for obtaining the educational and qualification level “Master” on the “Modernization of a laboratory photobioreactor to study the process of microalgae cultivation” / NTUU “Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute”. Head Doctor of Technical Sciences, Melnyk V.M. Performer Voitsekhovskyi S.O., student of the BI-81mp group.

The work consists of: 4 sheets of drawings for re-calculation of A1 format, 4 posters of A1 format and an explanatory note. The explanatory note consists of a list of symbols, introduction, six sections, conclusion, list of references and annexes. The total amount of work is 112 A4 pages, 58 figures, 5 tables, 1 diagram and a list of links from 49 titles.

In the master's work, computer simulation of the bubbler operation and the load of the apparatus body by internal pressure in ANSYS environment and mathematical modeling of the study of microalgae growth were performed. Based on the simulation results, an optimized design of laboratory photobioreactors was designed to study the microalgae cultivation process to ensure technical conditions. A 3D model was also developed in the SolidWorks program.

The master’s work provides calculations confirming the operability and reliability of the design of the designed laboratory photobioreactors for studying the process of growing microalgae, and gives recommendations for installation and operation.

All calculations and drawings are made in accordance with current standards and using modem system and information technologies.

KEYWORDS: LABORATORY PHOTOBIOREACTOR MODELING, CULTIVATION, MICROALGAE.

ЗМІСТ

Перелік скорочень та умовних позначень

НАДФ – Никотинамидадениндинуклеотидфосфáт

АТФ – Аденозинтрифосфáт

ЕЖК – ефіри жирних кислот

Хл – хлорофіл

Хл* - реакційний центр фотохімічних реакцій

β – масова частка хлорофілу

γ - коефіцієнт, що дорівнює відношенню усереднених молекулярних мас

p - ступінь насичення газу (CO_2 або O_2) у фазі «Рідина»

ν - об'ємна частка газу в фазі «Газ»

ρ^0 - щільність, г/л

c^0 - розчинність у воді, г/л

α - об'ємна частка фази «Газ» в сумарному робочому об'ємі фотобіореактора

φ - функції, що задають режим продувки фотобіореактора

Вступ

Мікроводорості стоять на початку трофічних систем, граючи найважливішу роль у функціонуванні всієї біосфери. Але останнім часом все більше уваги привертає їх промислове виробництво, оскільки вони знаходять своє застосування в різних сферах народного господарства. Це і виробництво продуктів харчування, кормів, добрив, а також новий перспективний напрямок - біопаливне виробництво.

Сьогодні людство починає розуміти наслідки недбайливого використання енергетичних ресурсів, тому усе більше уваги приділяється альтернативним джерелам енергії. Одним з таких джерел слугують масла з водоростей, які є екологічно раціональною сировиною для виробництва біодизелю. Виробництво біодизелю з водоростей не викликає зниження об'єму вирощування сільськогосподарських культур, призначених для харчування, та не потребує культивованих земель.

Ідея культивування мікроводоростей в промислових масштабах виникла в Німеччині в середині минулого століття, коли намагалися отримувати харчові масла з діатомових водоростей (проте обрані культури характеризувалися низькою продуктивність). Незабаром увагу вчених привернули зелені мікроводорості виду Chlorella і Scenedesmus, які переважно і культивувалися в наступні роки. Однак в той час ще слабо були розвинуті технологічні особливості вирощування мікроводоростей, тому інтерес до них тимчасово знизився. Поновлення досліджень в галузі промислового культивування мікроводоростей почалося з кінця 60-х рр., І інтерес до них не вгасає до сьогоднішнього дня.

Вирощування мікроводоростей в промислових масштабах має вже піввікову історію. Отримана біомаса використовується в сільському господарстві, в харчовій промисловості, парфумерії, фармакології, медицині і в інших галузях народного господарства. Світова альгофлора налічує близько 40 тис. видів (в Україні - понад 5 тис. видів), але найбільш перспективними вважають представників сімейств Chlorella, Dunaliella, Scenedesmus, Spirulina. Найбільш продуктивними виявилися діатомові (крем'яні) водорості (Diatoms) і зелені водорості (Chlorophyceae). Також були виведені нові штами водоростей, які характеризуються високою продуктивністю і олійністю. Перспективним зразком біотехнологічних розробок визнано зелену колоніальну водорість Botryococcus braunii. Вона містить понад 70% вуглеводів від маси сухої речовини, має широку екологічну амплітуду і значний географічний ареал поширення, може успішно рости в умовах України.

У країнах Європейського Союзу частка використання альтернативних видів палива, вироблених з відновлюваних ресурсів, постійно зростає. І Україна, якщо має на меті увійти до складу ЄС, теж повинна активно розробляти ці питання. Кабінет Міністрів України своєю Постановою від 22 грудня 2006 №1771 «Програму розвитку виробництва дизельного біопалива», яка передбачає забезпечення сільгоспвиробників біопаливом, виробленим з ріпаку, створення регіональних зон концентрованого вирощування озимого і ярого ріпаку площею від 50 до 70 тис. гектарів і технічної бази для виробництва біопалива і переробку 75% вирощеного врожаю на біодизель.

Біодизельне паливо виробляють шляхом хімічного процесу із сировини біологічного походження. У країнах Європи їм слугує в основному рапсове масло, в США - соя, в Індонезії і на Філіппінах - плоди олійної пальми, в Бразилії - масло рицини. Використовують також відпрацьований рослинне масло, риб'ячий і тварин жир і ін. Однак вирощування сировини для виробництва біопалива вимагає відчуження великих земельних площ, інтенсивна експлуатація яких буде надавати величезне навантаження на грунти, знижуючи їх родючість. До того ж існує думка, що використання врожаю сільськогосподарських культур для виробництва біопалива в перспективі може привести до глобальної продовольчої кризи. Масове виробництво біодизеля з пальмової олії сприяє знищенню тропічних лісів в Індонезії. Навіть посіви біоенергетичних культур часто витісняють посіви продовольчих культур, що також викликає тривогу.

В останні роки вчені працюють над пошуком інших енергоємних екологічних і природоекономічних об'єктів, серед яких особливе місце займають мікроскопічні водорості. Окремі види характеризуються потенційно високою продуктивністю, швидким накопиченням біомаси, їх відносно легко вирощувати, а зміст ліпідної фракції в них до десяти разів вище, ніж у вищих рослинах (понад 75% сухої речовини біомаси).

Мікроводорості вважаються перспективною сировиною для виробництва біодизельного пального. Розвиток мікроводоростей в культурі нівелює вплив кліматичних і сезонних чинників зростання, а формування штаммової специфіки і продуктивності дає можливість отримувати біомасу протягом усього року. Лідерами в цій галузі є Нідерланди, Німеччина, Південно-Африканська Республіка, а також США і Австралія. Активний пошук ведуть фахівці Китаю і Японії. Вчені працюють над оптимізацією параметрів біокультиваторів і біореакторів для активного нарощування біомаси водоростей і переробки сировини, пошуку продуктивних видів і штамів водоростей.

Водорості чудово підходять для отримання біодизельного палива: забезпечують відмінний вихід біомаси на кожен квадратний метр площі культивування (на відміну від сухопутних рослин), не містять сірки та інших токсичних компонентів (на відміну від нафти), відмінно розкладаються мікроорганізмами і, що найважливіше, забезпечують високий вихід готового продукту - до 50% від вихідної біомаси. Вчені США розрахували, що 200 тис. гектарів водойм для вирощування мікроводоростей можуть надати біопаливо, якого буде достатньо для річного споживання 5% автомобілів країни.

Вирощування мікроводоростей для отримання біодизелю може допомогти у вирішенні екологічної проблеми утилізації $CO2$ і зниження парникового ефекту. Викиди теплових станцій можуть бути використані для культивування мікроводоростей. Наприклад, утилізація димових газів для вирощування мікроводоростей забезпечує ефективну систему газоочищення на підприємствах металургійної, хімічної промисловості, на підприємствах теплоенергетики, сміттєспалювальних заводах.

В ідеалі, і саме виробництво біодизеля з мікроводоростей є екологічно чистим, оскільки не використовується енергія викопних палив, а використовується енергія, отримана при анаеробному зброджуванні залишку біомаси.

Також великих успіхів досягли розробки в сфері застосування мікроводоростей для виробництва біогазу. Зокрема, в лабораторії Кременчуцького університету під керівництвом професора Єлізарова створили установку для переробки синьо-зелених водоростей, активно розростаються у водосховищах Дніпра. Отриманий газ можна використовувати і в побуті. При цьому залишки після переробки можуть служити добривом.

Іншим напрямком використання водоростей є виробництво на їх основі добрив. Китайська компанія Leili Agrochemistry Co., Ltd спеціалізується на виробництві і продажу серії продуктів на основі екстрактів водоростей. На сьогодні компанія займає провідні позиції в Азії і є одним з 5 найбільших виробників добрив з водоростей. Серед продуктів: екстракти бурих водоростей, панцирів креветок і крабів, гідролізат білків, екстракти леонардіта, ад'юванти для пестицидів, природні ЗЗР.

Екстракти водоростей містять велику кількість цитокінінів, бетаїн, альгополіфеноли, вітаміни, гормони, природні антиоксиданти і мінеральні елементи (Mg, Ca, B, Mo та ін.), Що сприяють росту і розвитку рослин (стимулюють поділ клітин, диференціацію калусної тканини та ін.) і підвищують показники родючості ґрунту.

Синьо-зелені водорості здавна використовуються на рисових полях як біодобрива. Представники роду Anabena в симбіозі з папороттю Azolla здатні за сезон зв'язати до 60 кг / га азоту, а також є цінним джерелом органічної речовини, що поліпшує родючість ґрунту. При цьому, мікроводорості є поновлюваним ресурсом, на відміну від промислового виробництва азотних добрив. Поряд з азотфіксацією, водорості виділяють ростосимулюючі речовини, що поліпшують ріст рослин.

Біомаса водоростей розглядається як органічне добриво, причому вигідно відрізняється від традиційних видів, оскільки не містить ні патогенної мікрофлори, ні залишків бур'янів, ні шкідників.

Бурі морські водорості традиційно використовуються в тваринництві і рослинництві багатьох країн. В якості кормової добавки, вони входять в кормовий раціон. Високий вміст в них макро- і мікроелементів робить можливим їх використання в якості добрив. Особливо багато в них міститься калію, азоту, фосфору, йоду, молібдену і бору. Вітаміни і амінокислоти позитивно впливають на ріст і розвиток рослин. Їх можна вносити в грунт або використовувати витяжки для передпосівної обробки насіння і позакореневого підживлення рослин.

На базі екстракту з бурої водорості Ascophyllum nodosum виготовляють добрива Bio-algeen S90, Goemar Goteo, Goemar BM 86, Kelpak SL і Wuxal Ascofol. Вони добре засвоюються через листкову пластинку і коріння, покращуючи також і властивості ґрунту. Ферменти, вітаміни, полісахариди, амінокислоти, фітогормони та батареї, що входять до складу екстрактів, сприятливо впливають на ростові процеси в рослині. Також в екстрактах водоростей містяться специфічні речовини - еліцітори, здатні зв'язуватися зі специфічними рецепторами і запускають захисні механізми в рослині.

Екстракти морських водоростей мають фітопротекторну функцію, збільшуючи стійкість рослин до грибкових захворювань, підвищують біологічну ефективність хімічних засобів захисту рослин. Наявність в екстрактах амінокислот і фітогормонів (ауксинів, цитокінінів, гіберелінів, бетаїнів) робить їх ефективними помічниками рослин в подоланні стресових ситуацій різного характеру. Біостимулюючий ефект екстрактів водоростей сприяє посиленню протидії рослин різним комахам.

При внесенні в системі фертигації, екстракти водоростей позитивно впливають на розвиток ґрунтової мікрофлори, сприяють розвитку кореневої системи рослин, підвищують її стійкість до захворювань і абсорбційну здатність.

Підвищуючи вміст хлорофілу в листі, екстракти водоростей сприяють проходженню процесу фотосинтезу.

На ринку України серед добрив з додаванням екстрактів водоростей: Фертігрейн Старт і ТЕКАМИН Раїс іспанської компанії Agritecno fertilizantes, SL, Маджестик (Фреш), пропонований компанією «Агросфера» (китайський виробник British Eco System Holding Inc.), Sea Line китайської компанії Leili Agrochemistry Co ., ЦТА антидепресант-4 (CTA Stymulant-4) іспанського виробника Químicas meristem, SL, екстракт морських водоростей водить до складу добрив лінійки

Спектрум британської компанії Headland Agrochemicals Ltd., добриво Смартгроу (SmartGrow) Альгум вітчизняної компанії «Агрооптіма», Wuxal Bio Аскофол німецької компанії Aglukon GmbH., Спідфол Марін компанії SQM, добрива лінійки Райкат іспанського виробника Atlantica Agricola і інші.

Мікроводорості успішно використовуються для підвищення родючості ґрунтів, для поповнень запасів органічної речовини, що сприяє підвищенню врожайності сільськогосподарських культур. З цією метою застосовують зелені (Ch. Vulgaris, Scenedesmus obliquus, Scenedesmus acutus, Scenedesmus quadricauda, Scenedesmus spinosa) і синьо-зелені мікроводорості (сімейства Nostocaceae). Це широко використовується при вирощуванні рису, де в чеках мешкає велика кількість синьо-зелених водоростей, серед яких багато азотфіксаторів.

Ефективним виявляється альгалізація ґрунту - внесення живих культур мікроводоростей в ґрунт, особливо в умовах зрошуваного землеробства. Її проводять до посіву або при посіві разом з насінням (наприклад, з бавовником), або водорості вносять після посіву, що особливо ефективно на рисових полях.

Також водорості слугують індикаторами стану ґрунтів, використовуються в якості тест-об'єктів при визначенні потреби ґрунту в добривах, служать індикаторами при випробуванні різних пестицидів. За рахунок своєї чутливості до будь-яких змін середовища існування, мікроводорості є невід'ємними учасниками ґрунтового моніторингу.

Водорості можна використовувати з метою утилізації органічних відходів. Ці проекти дуже перспективні, оскільки водорості споживають нітрати, фосфати і скорочують кількість бактерій і токсинів у воді.

Найбільш перспективним вважається використання водоростей для очищення стічних вод підприємств харчової промисловості, рибоводів, тваринницьких ферм, птахофабрик, боєнь. Водорості для очищення стічних вод успішно застосовують в США, Японії, Німеччині. Це дозволяє з одного боку очистити воду, з іншого - отримати біомасу, яка може бути використана в різних сферах.

Також можливе використання мікроводоростей для фіторемедіції забруднених нафтопродуктами і іншими токсикантами водойм і грунтів.

Біомаса мікроводоростей знаходить застосування в якості високобілкових продуктів харчування для тварин і людини. Перші звістки про можливість використання мікроводоростей для виробництва харчових продуктів відносяться до XVI ст. У 1521 р з'явилося повідомлення про галети, які продавалися на базарі в Мехіко і складалися з висушених шарів мікроводорості спіруліни. Сучасний аналіз зразків спіруліни показав, що вона містить до 70% білка, 19% вуглеводів, 6% пігментів, 4% ліпідів, 4% нуклеїнових кислот.

Хлорелу широко використовують як кормову добавку при відгодуванні сільськогосподарських тварин і птахів. Японці пішли далі, і стали додавати хлорелу в продукти, призначені для людини, в чому досягають успіху досі, щодня виготовляючи до 4 т сухої хлорели тільки для приготування молочного напою. Тільки одна фірма «Джепаев хлорелла» щомісяця виробляє 1 тис. т хлорели для різних цілей (добавки до напоїв, морозива, хлібу, в кондитерські вироби та ін.). На острові Тайвань щомісяця отримують близько 1,5 тис. т сухої маси хлорели. Малайзія і Філіппіни використовують на харчові потреби понад 500 т цієї водорості. А в Чехії випускають порошки, мазі, спиртові екстракти та свічки з хлорели. На ринках багатьох розвинутих країн вона займає стійку позицію.

Хлорела містить усі незамінні амінокислоти, макро- і мікроелементи, за багатством на вітаміни перевершує всі рослинні корми сільськогосподарського виробництва. Крім того, хлорелла синтезує природний антибіотик, успішно знищує патогенну мікрофлору. Як кормових добавок у тваринництві та птахівництві використовують водорості пологів Chlorococcum, Spirogyra, Scenedesmus, Nostoc, Navicula, Nitzschia і ін., Які надають позитивний вплив на тварин.

Як свідчать дослідження Інституту біології південних морів ім. О.О. Ковалевського, мікроводорості є кормом для личинок мідій і устриць, що обумовлює пошук ефективних шляхів їх розмноження.

Одним з перспективних напрямків використання мікроводоростей є біосинтез ними пігментів, таких як хлорофіли, каротини, ксантофіли, фікобіліпротеїни. Примітно, що отримані таким шляхом пігменти не токсичні. Зелена водорость

Dunaliella salina визнана найбільш перспективним джерелом каротину, зміст якого може досягати 10%.

Перспективним джерелом пігменту хлорофілу є синьо-зелені водорості, з яких в даний час культивується спіруліна. Її хлорофіли використовують для фарбування мила, масел, жирів, алкогольних і безалкогольних напоїв, одеколону, духів, у якості дезодоранту. В Японії хлорофілами забарвлюють рибні пасти та інші кулінарні вироби, в Європі - масла, жири, ароматичні есенції. Інший харчовий барвник, фікоцианін, виділяють з синьо-зеленої мікроводорості Phormidium.

Також була доведена висока ефективність застосування мікроводоростей при лікуванні і профілактиці цілого ряду захворювань, пов'язаних з порушеннями діяльності імунної, ендокринної, травної, серцево-судинної та нервової систем тварин і людини. Помітний терапевтичний ефект надає мікроводорость Spirulina, що визначається її унікальним складом: біомаса спіруліни містить легко засвоюваний білок, вільні незамінні амінокислоти, широкий спектр мікроелементів і мінеральних солей, поліненасичені жирні кислоти, пігменти і ін. Препарати спіруліни у вигляді мазей, спиртових та олійних екстрактів, свічок і таблеток сприяють зниженню холестерину в крові і ризику ожиріння, зменшують нефротоксичність при впливі важких металів і ліків, значно збільшують популяції біфідобактерій в кишечнику, знижують вміст цукру в крові при діабеті. У зв'язку з проблемою йододефіциту у населення України, розроблені біотехнологічні способи виробництва біомаси спіруліни з високою концентрацією йоду - до 100 мкг в 1 г біомаси мікроводорості, велика частина йоду входить до складу органічних сполук, що є більш стійкими, ніж мінеральні.

Також мікроводорості розглядаються як джерело біологічно активних речовин, характеризуються антиоксидантною дією, здатні сповільнювати розвиток ракових пухлинних клітин. Також мікроводорості розглядаються як джерела синтезу гормонів, алкалоїдів, вітамінів.

Щодо технології вирощування: мікроводорості можна вирощувати в промислових масштабах у фотобіореакторах, що представляють собою закриті, керовані, автоматизовані системи безперервного циклу, що дозволяє найменш витратним чином підтримувати гігієну культури. За рахунок модульного дизайну обладнання забезпечується економія виробничих площ. Установка вимагає мінімальних витрат праці та матеріалів під час експлуатації та обслуговування.

Серед основних елементів технології вирощування мікроводоростей:

Забезпечення CO_2: біомаса водоростей містить близько 50% вуглецю на суху масу, який асимілюється з вуглекислого газу. Для виробництва 100 т біомаси водоростей необхідно пов'язати близько 180 т CO_2, який повинен надходити безперервно протягом світлового дня. При відкритому способі вирощування поглинання вуглекислого газу відбувається з атмосфери. Для активного росту мікроводоростей необхідно збагачення живлячого розчину сумішшю повітря і CO_2 і видалення O_2. Вуглекислий газ може бути отриманий з балона з CO_2, або зроблений з вихлопних газів дизельгенератора після їх попереднього очищення.

Освітлення: вирощування водоростей у водоймищах неефективне, оскільки в звичайних водоймах поверхневі водорості закривають промені сонця знаходяться на глибині. Також виникають проблеми випаровування води і поява водоростей-бур'янів. Тому зараз установки передбачають вертикальне розміщення водоростей.

Елементи живлення: як правило, готують розчин елементів живлення, який додають в воду кожні 10 годин. Використовують поживні середовища Бурреллі, Чу-13, Тамія, Болда і ін.

Температура: більшість водоростей розвивається в водоймах при температурі 35-40 °С, з підвищенням температури їх кількість різко падає.

Періодично культуральне середовище направляється на лінію фільтрації, що являє собою набір гідроциклонів, в яких відбувається первинне відділення біомаси водоростей від рідини. Фільтрат повертається в ємність для приготування живильного розчину. Концентрат біомаси водоростей направляється в мікрохвильову сушку для досушування і далі використовується для різних виробництв.

Вітчизняні вчені також можуть похвалитися своїми досягненнями у сфері розробки технології виробництва і застосування мікроводоростей. Є здобутки в сфері розробки технологій культивування водоростей, а також технології виробництва біодизелю з сировини. Існує колекція культур водоростей IBASU-A (більше 500 штамів, 102 види), фахівці-фікологи, які розробляють питання практичного вивчення водоростей і здатні забезпечити дослідження в цій області, та також є лабораторії, які здатні провести аналізи сировини. Проблемою виробництва біодизелю з мікроводоростей в Україні займаються такі вчені, як Слободян Н.М., Шульгін С.І., Царенко П., Борисова О., Блюм Я. і ряд інших.

Виробництвом установок для товарного вирощування мікроводоростей в Україні займається Науково-виробнича фірма «Промбіотехніка». Установка являє собою систему замкнутого водозабезпечення, специфічно налаштовану на отримання біомаси мікроводорості Spirulina platensis. Установка здатна виробляти від 3 кг сухої біомаси за добу.

Таким чином, перспектива та актуальність виявляються дуже цікавими.

Вдосконалення виробництва альтернативних джерел енергії на основі інноваційних методів ведення технологічних процесів є необхідною складовою розвитку сучасної промисловості.

Однією з проблем на вирішення якої направлені інноваційні методи і технології є максимальне вилучення цільових продуктів з сировини. Зокрема це стосується виробництва масел з водоростей, які знаходять своє застосування як сировина для створення біопалив.

Разом з тим в літературі практично відсутні дані, що дозволяють встановити і порівняти кількісні характеристики виходу біомаси в процесах культивування водоростей у фотобіореакторах.

Розроблення обладнання для культивування водоростей вимагає встановлення кількісних кінетичних характеристик і коефіцієнтів дифузії процесу культивування водоростей з рослинної сировини. Отже встановлення кінетичних залежностей і коефіцієнтів дифузії протікання процесу культивування водоростей є актуальним.

В даному курсовому проекті представлений лабораторний фотобіореактор для дослідження процесу вирощування мікроводоростей.

1 ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1 Морфологія, склад, виробництво і застосування Chlorella vulgaris

Останнім часом мікроводорості стали багатообіцяючою альтернативною сировиною, яка являє собою величезне біорізноманіття з безліччю переваг, що перевищують потенціал звичайної сільськогосподарської сировини. Як і будь-який інший фітопланктон, мікроводорості мають поживну цінність [1]. Першими, хто споживав синьо-зелену мікроводорость, були ацтеки і інші мезоамериканці, які використовували цю біомасу в якості важливого джерела їжі. В даний час ці мікроскопічні організми, як і раніше споживаються в якості харчової добавки, такої як Chlorella vulgaris і Spirulina platensis [2], а їх продукти також використовуються для різних цілей, таких як барвники, фармацевтичні препарати, корм для тварин, аквакультура і косметика.

Протягом останніх двох десятиліть мікроводорості почали новий курс зі зростаючими потребами, викликаними виснаженням запасів викопного палива, наступним зростанням цін на нафту і проблемою глобального потепління. Ці драматичні пороги змушують світ знаходити глобальні стратегії пом'якшення вуглекислого газу, пропонуючи альтернативні поновлювані джерела сировини і інтенсифікуючи дослідження біопалива третього покоління. У цьому контексті мікроводорості в даний час розглядаються як перспективний стійкий енергетичний ресурс через їх здатність накопичувати велику кількість ліпідів, придатних для виробництва біодизеля, який дуже схожий на нафтове паливо [3]. Вони також виявилися джерелом таких продуктів, як білки, вуглеводи, пігменти, вітаміни і мінерали [4]. Крім того, мікроводорості захоплюють сонячне світло і виконують фотосинтез, виробляючи приблизно половину атмосферного кисню на Землі і поглинаючи величезну кількість вуглекислого газу в якості основної сировини. Тому вирощування їх поруч з електростанціями для спалювання має велике значення через їх чудову здатність поглинати вуглекислий газ, який вони перетворюють в потенційні компоненти біопалива, продуктів харчування, кормів і компонентів з високою доданою вартістю [5].

Мікроводоростей є величезне біорізноманіття, з якого вже описано чи проаналізовано близько 40 000 [6]. Одним з найбільш чудових є зелена еукаріотична мікроводорость C. vulgaris, яка відноситься до наступної наукової класифікації: Domain: Eukaryota, Kingdom: Protista, Divison: Chlorophyta, Class: Trebouxiophyceae, Order: Chlorellales, Family: Chlorellaceae, Genus: Chlorella, Specie: Chlorella vulgaris. Отже, голландський дослідник Мартинус Віллем Бейерінк вперше відкрив її у 1890 році як перша мікроводорость з чітко визначеним ядром [7]. Назва Chlorella походить від грецького слова chloros (Χλωρός), що означає зелений, а латинський суфікс ella - його мікроскопічний розмір. Це одноклітинна мікроводорость, яка росте у прісній воді і присутня на Землі з докембрійського періоду 2,5 мільярда років тому, і з тих пір її генетична цілісність не змінилася. До початку 1900-х років вміст білка хлорели (> 55% сухої маси) привернуло увагу німецьких вчених як нетрадиційне джерело їжі. У 1950-х роках Інститут Карнегі у Вашингтоні взяв участь в дослідженні і зумів виростити цю мікроводорость у великих масштабах для боротьби з викидами CO_2. В даний час Японія є світовим лідером у споживанні Chlorella і використовує її для лікування [8], оскільки вона показала, що володіє імуномоделюючими та протираковими властивостями [9]. Після годування нею щурів, мишей і кроликів у вигляді порошку виявивлено захисні властивості проти гематопоезу [10], пов'язані з віком, такі як серцево-судинні захворювання, гіпертонія і катаракта; це знижує ризик розвитку атеросклерозу і стимулює синтез колагену для шкіри [11]. Крім того, C. vulgaris також здатна накопичувати важливі кількості ліпідів, особливо після голодування азоту, з профілем жирної кислоти, відповідним для виробництва біодизеля [12].

C. vulgaris являє собою сферичну мікроскопічну сферу діаметром 2-10 мкм [13] і має безліч структурних елементів, схожих з рослинами (рис. 1.1.1).

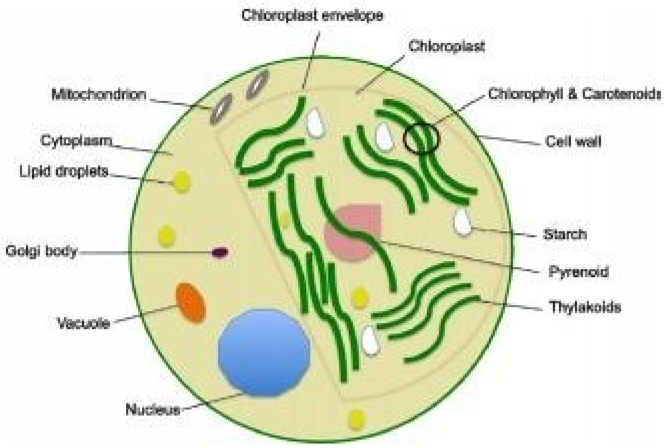


Рисунок 1.1.1 - Схематична ультраструктура C. vulgaris, що представляє різні органели [1]

C. vulgaris – це нерухома репродуктивна клітина (автоспор), яка розмножується безцеремонно і швидко. Таким чином, протягом 24 годин одна клітина C. vulgaris, вирощена в оптимальних умовах, розмножується найбільш поширеним безстатевим розмноженням у водоростях. Таким чином, чотири дочірні клітини, які мають власну клітинну стінку, утворюються всередині клітинної стінки материнської клітини (рис. 1.1.2 і 1.1.3) [13]. Після дозрівання цих новостворених клітин руйнується материнська клітинна стінка, що дозволяє вивільняти дочірні клітини і залишки материнської клітини як корм новоутвореним дочірнім клітинам.

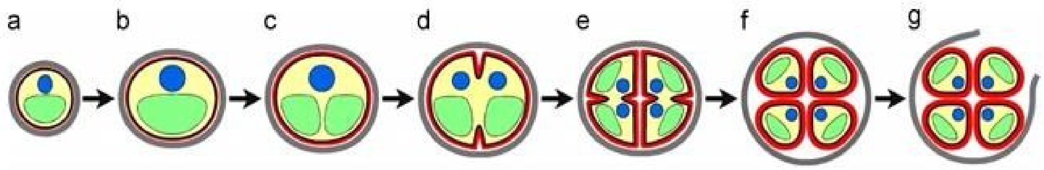


Рисунок 1.1.2 - Схема, що показує різні фази формування дочірніх клітинних стінок в Chlorella vulgaris: а) рання фаза росту клітин; б) пізня фаза росту клітин; с) фаза поділу хлоропластів; d) рання фаза поділу протопластів; e) фаза поділу пізнього протопласта; f) фаза дозрівання дочірніх клітин і g) фаза вилуплення [13]

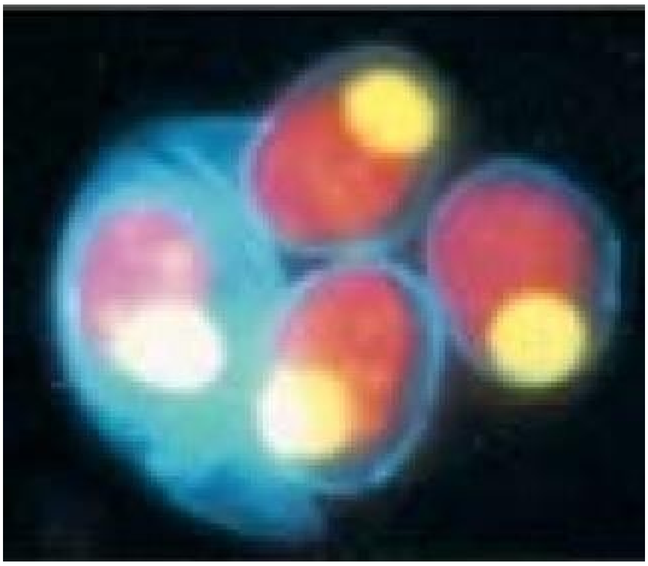


Рисунок 1.1.3 - Нещодавно сформовані клітини виходять за межі клітинної стінки материнської клітини після вилуплення [13]

Річне виробництво хлорели досягло 2000 т (суха вага) в 2009 році, а основними виробниками є Японія, Німеччина і Тайвань [14]. Ця мікроводоросль має швидкий темп росту і реагує на кожен набір умов зростання шляхом зміни виходу конкретного компонента. C. vulgaris ідеально підходить для виробництва, тому що вона надзвичайно стійка до суворих умов. З одного боку, вміст ліпідів і крохмалю збільшується, а продуктивність біомаси припиняється або зменшується [15] в несприятливих умовах зростання, таких як обмеження азоту і фосфору, висока концентрація CO_2, надмірна дія світла [16-17], надлишок заліза в середовищі [18] або підвищення температури [19]. З іншого боку, вміст білка збільшується в нормальних і керованих умовах зростання (додавання азоту). Тому багато методів зростання були протестовані для того, щоб добровільно націлити продуктивність біомаси, вміст ліпідів, білків, вуглеводів і пігментів.

Відомо, що показники зростання і склад мікроводоростей в значній мірі залежать від умов культивування [20]. Існує чотири основних типи умов культивування мікроводоростей: фотоавтотрофні, гетеротрофні, міксотрофное і фотогетеротрофний культури [20]. Кожен вид культивування детально обговорюється знизу.

Фотоавтотрофне культивування відбувається, коли мікроводорості використовують світло, наприклад сонячне світло, як джерело енергії, і неорганічний вуглець (наприклад, вуглекислий газ) в якості джерела вуглецю для утворення хімічної енергії за допомогою фотосинтезу. Це найбільш використовувана умова культивування для зростання мікроводоростей. У порівнянні з іншими видами культивування проблема забруднення менш виражена при використанні фотоавтотрофного зростання. Таким чином, системи культивування мікроводоростей на відкритому повітрі (такі як відкриті ставки) зазвичай експлуатуються в умовах фотоавтотрофного культивування [4]. Фотоавтотрофне культивування можна розділити на відкриті ставки і закриті фотобіореактори.

Відкриті ставки є найбільш поширеним способом виробництва і є найдешевшим методом для великомасштабного виробництва біомаси. Ці системи поділяються на природні води (озера, лагуни і ставки), стічні води, штучні ставки або контейнери. Вони зазвичай будуються поряд з електростанціями або важкою промисловістю з масивним викидом діоксиду вуглецю, де біомаса поглинає азот з атмосфери у вигляді NO_x. Щоб забезпечити можливість легкого впливу всіх клітин на сонячне світло, особливо в кінці експоненційної фази росту, оптимальна глибина ставка становить 15-50 см [14,19]. З іншого боку, відкриті системи ставка мають деякі обмеження, оскільки вони вимагають суворого екологічного контролю, щоб уникнути ризику забруднення, випаровування води, забруднень, вторгнення бактерій і ризику зростання інших видів водоростей. Крім того, не можна регулювати різницю температур через сезонні зміни, а концентрацію CO_2 і надмірну дію сонячного світла важко контролювати. Більше того, особливо наприкінці фази експоненціальної зростання деякі клітини недостатньо схильні до сонячного світла, тому що інші клітини, плаваючі поблизу поверхні, покривають їх, що призводить до більш низьких масових виходів. Тому перемішування середовища є кращим і в даний час практикується.

Закритий фотобіореактор був реалізований в основному для подолання деяких обмежуючих факторів в системах відкритих ставків, таким чином, вирощування біомаси в керованому середовищі (pH, інтенсивність світла, температура, концентрація вуглекислого газу) для отримання більш високої концентрації клітин, а також продуктів, які більш підходять для виробництва чистих фармацевтичних препаратів і косметики. Крім того, ці системи більш підходять для чутливих штамів, які не можуть конкурувати і рости в суворих умовах. Подача біомаси з CO_2 відбувається у корпус. Лампи освітлення використовуються в разі, якщо корпус недостатньо схильний до дії сонячних променів. Корпуси зазвичай мають діаметр 20 см або менше [21], а товщина їх прозорих стінок становить кілька міліметрів, що забезпечує відповідне поглинання світла. Таким чином, були використані і протестовані кілька конструкцій: фотобіореактор з плоскою платівкою, трубчастий фотобіореактор і фотобіореактор з колонкою. Проте, основними недоліками закритої системи є вартість складної конструкції, невелика площа освітлення та стерилізація витрат [22].

Деякі види мікроводоростей можуть не тільки рости у фототрофних умовах, але також використовувати органічний вуглець в умовах недостатнього освітлення, як і бактерії. Ситуація, коли мікроводорості використовують органічний вуглець як джерело енергії і вуглецю, називається гетеротрофним культивуванням [20]. Цей вид культивування міг би уникнути проблем, пов'язаних з обмеженим світлом, які перешкоджають високій щільності клітин в великомасштабних фотобіореакторах при фотоавтотрофному культивуванні. Джерелами вуглецю, використовуваними для C. vulgaris, є глюкоза, ацетат, гліцерин і глутамат з максимальною питомою швидкістю росту, одержуваної з глюкозою. Проте, основним недоліком цієї системи є ціна і доступність цукрів, які конкурують з сировиною для інших цілей, таких як виробництво продуктів харчування і біопалива. Гетеротрофна система на основі цукру часто страждає від проблем із забрудненням.

C. vulgaris здатний поєднувати як автотрофні, так і гетеротрофні методи шляхом проведення фотосинтезу, а також проковтування органічних матеріалів, таких як глюкоза, що є найбільш відповідним для C. vulgaris [23]. Отже, клітини не залежать строго від світла або органічного субстрату. Цей метод успішно конкурує з автотрофними системами. Основними перевагами міксотрофного метаболізму є обмеження впливу втрати біомаси при темному диханні і зменшення кількості органічних субстратів, що використовуються для вирощування біомаси.

Фотогеротрофне культивування – це коли мікроводоростям потрібно світло при використанні органічних сполук в якості джерела вуглецю. Основна відмінність між міксотрофним і фотогетеротрофним культивуванням полягає в тому, що останній вимагає світла як джерело енергії, в той час як міксотрофне культивування може використовувати органічні сполуки для цієї мети. Отже, фотогетеротрофне культивування одночасно вимагає як цукру, так і світла [20]. Хоча виробництво деяких легко регульованих корисних метаболітів може бути посилено за рахунок використання фотогетеротрофного культивування, використання такого підходу для отримання біодизелю не часто можна зустріти, як у випадку з міксотрофного культивування.

1.2 Вплив інтенсивності світла і фотоперіоду на біомасу C. vulgaris

Одним з основних факторів, які впливають на фізіологію і кінетику зростання хлорели є світлові умови [24]. Кількість і якість світла визначають кількість енергії, доступної для фотосинтезуючих організмів, для проведення їх метаболічних процесів. Численні дослідження з мікроводоростями різних груп свідчать про те, що пігменти, ненасичені жирні кислоти, вуглеводи і вміст білка змінюються у відповідь на збільшення або зменшення інтенсивності світла. Варіації в світло-темному режимі накладають зміни клітинного змісту білків, вуглеводів і ліпідів. [24] У роботі було досліджено вплив інтенсивності світла і фотоперіоду на біомасу C. vulgaris. Опромінення здійснювалася за допомогою холодних флуоресцентних ламп білого кольору.

Інтенсивності світла (37,5, 62,5 і 100 мкмоль фотонів $м^{-2}с^{-1}$) і цикли світла / темряви (8:16, 12:12 та 16:8 годин) у вигляді окремих параметрів і їх взаємодії значно вплинули на біомасу C. vulgaris в кінці експоненційної фази росту (Рис. 1.2.1) [24]. Більш тривалий вплив світла приводив до збільшення біомаси C. vulgaris (Рис. 1.2.2). Однак інтенсивність світла надавала різний вплив на біомасу; збільшення інтенсивності світла від 37,5 до 62,5 мкмоль фотонів $м^{-2}$ $с^{-1}$ призвело до збільшення біомаси, але при 100 мкмоль фотонів м$^{-2}$с$^{-1}$ біомаса зменшилася. Максимальна біомаса 2,05±0,1 г·л$^{-1}$ спостерігалася при інтенсивності 62,5 мкмоль фотонів м$^{-2}$с$^{-1}$ та 16:8 годин, а мінімальна біомаса 0,6-0,07 г·л$^{-1}$ досягалась при 37,5 мкмоль фотонів м$^{-2}$ с$^{-1}$ інтенсивності і 8:16 годин [24].

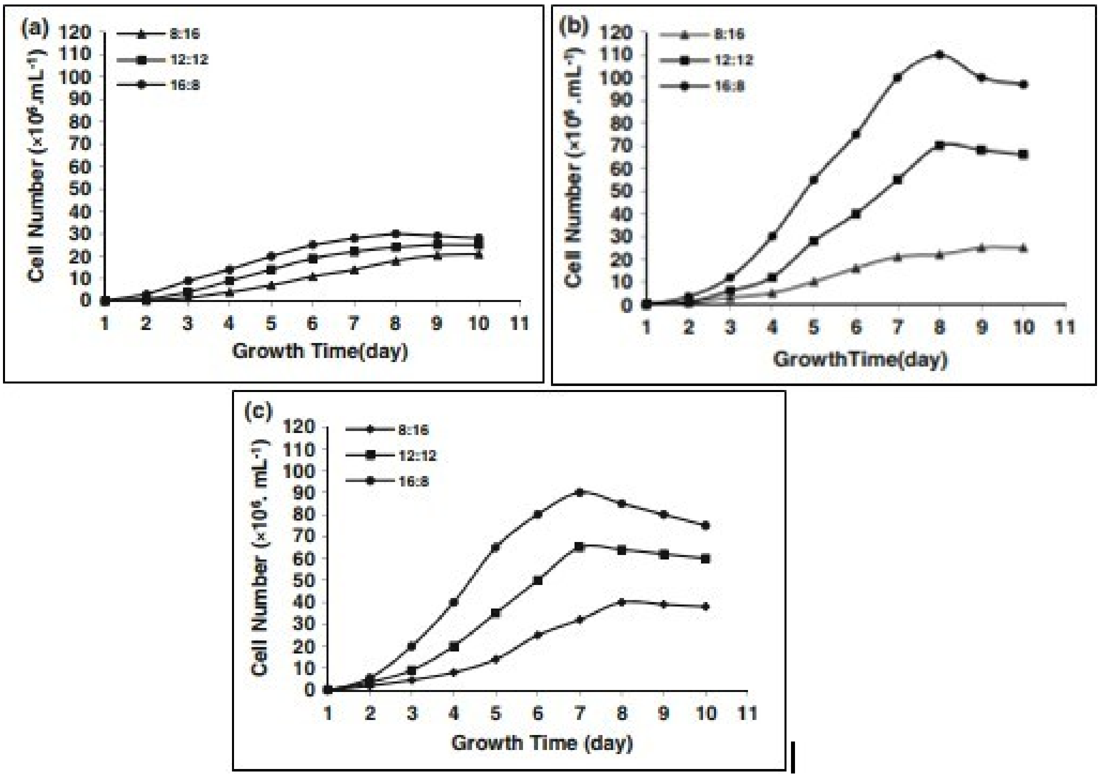


Рисунок 1.2.1 – Зміни концентрації клітин C. vulgaris, вирощених в трьох різних фотоперіодах (8L:16D, 12L:12D, 16L:8D) і інтенсивності світла ((a) – 37,5 мкмоль м$^{-2}$с$^{-1}$, (b) – 62,5 мкмоль м$^{-2}$с$^{-1}$, (c) – 100 мкмоль м$^{-2}$с$^{-1}$) [24]

Одне дослідження показало, що зростання фітопланктону залежить від загальної кількості світла в день, а в інших дослідженнях встановлено, що в залежності від виду фітопланктону зростання може контролюватися тільки фотоперіодом [25-26]. Результати у [24] роботі на фотоперіоді показали, що збільшення тривалості світла з 8:16 до 16:8 годин зробило сприятливий вплив на виробництво біомаси. Дійсно, режим світло/темрява дозволяє або збільшити кінцеву концентрацію, або знизити витрати виробництва. Необхідність темної фази пояснювалася тим, що фотосинтез регулюється двома реакціями: фотохімічною фазою, що залежить від світла, і іншою - біохімічною темною фазою, яка не залежить від світла.

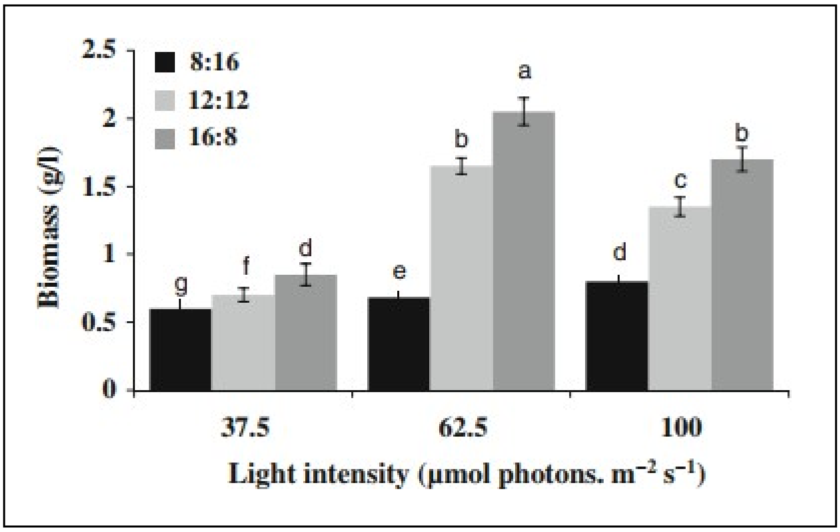


Рисунок 1.2.2 – Біомаса C. vulgaris на трьох фотоперіодах (8:16, 12:12 та 16:8 годин світло/темрява) і інтенсивності світла (37,5, 62,5 і 100 мкмоль фотонів $м^{-2}с^{-1}$) [24]

З'єднання, які виробляються у фазі, залежать від світла (АТФ, НАДФН), використовуються в темній фазі для синтезу метаболічних молекул, необхідних для росту. Крім того, у [27] роботі повідомили, що деякі ферменти циклу пентози фотосинтезу і фіксації CO_2 неактивні під час опромінення. Згідно з тією ж [27] роботою, спорідненість карбоксидзіматази до CO_2 різко зменшується в темряві, коли pH знижується. Його активність може бути повністю заблокована. Ця інактивація блокує поглинання рібулоза 1,5-дифосфата, таке як повне поглинання, може перешкоджати відновленню фотосинтезу на світлі. Темна фаза залишається необхідною, як мінімум, для регенерації кофакторів (NAD+, NADP+), необхідних для фази I фотосинтезу.

З 15/9 циклом фотоперіоду, використовуючи серію фотографій, зроблених в кожну годину дня, [27] показав, що поділ клітин відбувається в умовах недостатнього освітлення для багатьох одноклітинних Chlorophyceaen. Розподіл клітин відбувається в темній фазі, а також в освітленій фазі. Якщо рівновага клітин, яку дає мітоз, можлива при темних і освітлених умовах, розподіл клітин відбувається частіше після переривання освітленої фази. Тому краще використовувати фотоперіод з тривалістю світла від 12 до 15 годин, щоб забезпечити рівновагу, яка встановлюється між анаболічними і катаболічними явищами протягом циклу фотоперіоду. Крім того, для промислового застосування та обліку співвідношення витрат енергії і відповідних виробництв біомаси тривалість освітлення протягом 12-15 годин для освітленої фази зазвичай вважається оптимальною для росту водоростей [27].

Виробництво біомаси в багатьох мікроводоростей збільшувалася в умовах високої освітленості, що є очікуваною відповіддю на високе світло, що зазвичай призводить до збільшення відтворення до тих пір, поки не буде спостерігатися інтенсивність точки насичення, і після цього спостерігалося фотоінгібірування, що обмежує подальше виробництво біомаси. Цей ефект викликаний реакцією фотоокислення всередині клітини, оскільки надмірне світло не може бути поглинене фотосинтетичним апаратом [24].

Освітлення складається з двох предметів: інтенсивності та довжини хвилі світла. Наявні дані свідчать про те, що світло діє як орієнтир і допомагає впливати на проліферацію клітин і допомагає клітинному диханню і фотосинтезу. Під час ендотермічних реакцій для вуглецевого обміну потрібна енергія, і ця енергія подається світлом. Світло є основним фактором в процесі фотосинтезу для перетворення діоксиду вуглецю в органічні сполуки, такі як вуглеводи і білки, в яких виділяються вода і кисень. Якщо зростання мікроводоростей здійснюється при обмеженні світла, клітинні механізми прогресують з утворенням вуглецю у амінокислоти і інші важливі сполуки для клітин, але в насиченому освітленні збільшується виробництво цукру і крохмалю, а максимальна швидкість росту стабілізується. Тим не менш, деякі результати свідчать про неконкурентну стратегію освітлення, оскільки темпи зростання залишаються високими, а витрати виробництва зменшуються. Це пов'язано з тим, що поділ клітин для одноланцюжкової фотосинтетичної культури зазвичай відбувається в умовах недостатнього освітлення. Однак для інших випадків поділ клітин відбувається як в темній, так і в світових фазах, але для мікроорганізмів vulgaris відбувається більший поділ клітин після зупинки фази освітлення. Більш того, деякі ферментативні механізми можуть бути відключені під час висвітлення [28-30].

В роботі [17], було досліджено залежність біомаси від інтенсивності світла. На рис.1.6 показано зміна концентрації біомаси і змісту Chl *a*, коли концентрація KNO_3 і концентрація поглинаємого CO_2 контролювалися на рівні 1,0 мМ і 1,0% відповідно. Зростання клітин збільшувалося зі збільшенням інтенсивності світла.

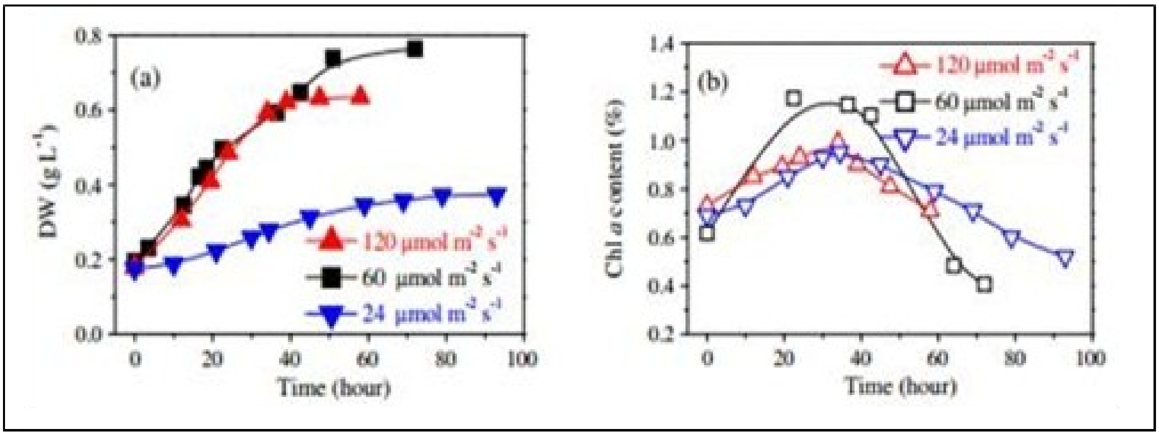


Рисунок 1.2.3 – Вплив опромінення на концентрацію біомаси (a) і Chl *a* зміст Chlorella vulgaris (b). (Концентрація KNO_3, 1,0 мМ; вихідний газ, 1,0% CO_2; швидкість газу 1,2 л·хв$^{-1}$; безперервне освітлення; температура 25°С) [17]

Як показано на рис. 1.2.3(a), тільки 0,37 г/л було отримано при інтенсивності 24 мкмоль фотонів м$^{-2}$с$^{-1}$, що може бути пов'язано з обмеженням світла. Зі збільшенням інтенсивності світла до 60 мкмоль фотонів м$^{-2}$с$^{-1}$ клітини безперервно росли і на стаціонарній стадії збирали 0,75 г/л C. vulgaris. Однак при подальшому збільшенні інтенсивності світла до 120 мкмоль фотонів м$^{-2}$с$^{-1}$ концентрація клітин дещо збільшилася на початковій стадії культивування, після чого була досягнута набагато нижча рівноважна концентрація біомаси 0,63 г/л у порівнянні з такою при 60 мкмоль фотонів м$^{-2}$с$^{-1}$ [17]. Зменшення концентрації біомаси при 120 мкмоль фотонів м$^{-2}$с$^{-1}$ може бути пов'язано з фотоінгібіруванням.

Вплив інтенсивності світла на вміст Chl *a* відповідало змісту біомаси. Як показано на рис. 1.2.3 (b), максимальний вміст Chl *a* збільшується з інтенсивністю світла близько 24, 120 і 60 мкмоль фотонів м$^{-2}$с$^{-1}$. Світло може призводити до змін pH, Mg^{2+} і NADPH в стромі, що буде модулювати активність ключових ферментів в процесі синтезу жирних кислот. Вплив інтенсивності світла на виробництво ліпідів було знайдено відповідно до впливом на виробництво біомаси. Інтенсивність світла в 60 мкмоль фотонів $м^{-2}с^{-1}$ може сприяти позитивним змінам pH, Mg^{2+} і NADPH, а потім опосередковано посилювати активність ключових ферментів, в той час, як обмеження світла, так і ослаблення світла можуть знизити активність ферменту. Таким чином, для C. vulgaris, культивованих під 60 мкмоль фотонів $м^{-2}с^{-1}$, було отримано не тільки найвищий вміст ліпідів в 20,0%, а й найбільша концентрація біомаси 0,75 г/л, тоді як клітини, культивовані під 24 і 120 мкмоль фотонів $м^{-2}с^{-1}$, мали вміст ліпідів відповідно 14,1% і 11,0%. Таким чином, максимальна продуктивність ліпідів 40 $мг{\cdot}л^{-1}{\cdot}d^{-1}$ була отримана при 60 мкмоль фотонів $м^{-2}с^{-1}$, що було приблизно в 2 рази більше, ніж при 120 мкмоль фотонів $м^{-2}с^{-1}$ [17].

У природі режим світла переривчастий, і інтенсивність змінюється щодня. Таким чином, зміни в кількості світла призводять до відмінностей в біомасі та біохімічному складі, а мікроводорості проявляють різну адаптацію до різних умов.

1.3 Вплив різних довжин хвиль світла на зростання мікроводорості Chlorella Vulgaris

Мікроводорості фотосинтезують, тобто вони асимілюють неорганічний вуглець для перетворення в органічну речовину. Світло є джерелом енергії, яка стимулює цю реакцію, і в цьому відношенні необхідно враховувати інтенсивність і спектральну якість. Як правило, мікроводорості використовують світло з довжиною хвилі від 400 до 700 нм для фотосинтезу. Довжини хвиль, що поглинаються мікроводоростями, розрізняються залежно від виду. Наприклад, зелені мікроводорості поглинають світлову енергію для фотосинтезу за допомогою хлорофілів в якості основної поглинаючої пігмент енергії світла в діапазоні 450-475 нм і 630-675 нм і каротиноїдів в якості допоміжного пігменту, що поглинає світлову енергію 400-550 нм [31]. У кількох дослідженнях повідомлялося про зростання мікроводоростей в різних довжинах хвиль світла. Червоне (600-700 нм) і синє світло (400-500 нм) стимулюють ріст мікроводоростей, а темпи зростання і вміст ліпідів в мікроводорослеях відрізняються інтенсивністю світла [31, 32, 33].

В роботі [31] показано, що довжини хвиль світла роблять помітний вплив на темпи зростання водоростей. Червоне і зелене світло не показували позитивну тенденцію в темпах зростання в порівнянні з білими і синіми світловими хвилями (рис. 1.3.1). В роботі [31] для опромінення використовувалися компактні люмінесцентні лампи потужністю 60 Вт (276 мкмоль $м^{-2}с^{-1}$). Вони були розміщені на відстані 20 см від фотобіореакторів, щоб виключити температурний ефект, який може бути викликаний опроміненням.

На рис. 1.3.1 показано, що біле, синє і червоне світло показали найвищі темпи зростання на 3-й день, і вони виглядають наступним чином: 0,369 $д^{-1}$, 0,235 $д^{-1}$ і 0,140 $д^{-1}$ відповідно (рис. 1.3.1). У зеленого світла був найвищий темп зростання на 2-й день, який становив 0,137 $д^{-1}$. Повідомлялося, що зелене світло найбільш ефективний у виробництві клітинних вуглеводів (тобто, CH_2O), отриманих з CO_2. Крім того, зелений фотон має на 20% більше енергії, ніж один червоний фотон (тобто, 680 нм) і на 15,5% менше енергії, ніж синій фотон (тобто, 470 нм). Отже, більш висока експозиція зеленого світла може мати деякий гальмівний ефект через більш високу подачу енергії. Хоча можна бачити, що синє світло має більше енергії, ніж зелений фотон, повідомлялося, що синій фотон підтримує зростання водоростей. Продуктивність об'ємної біомаси показана на рис. 1.3.1(C).

Найвища об'ємна продуктивність біомаси становила 0,038 г/л-д, 0,0199 г/л-д і 0,0096 г/л-д для білих, синіх і червоних світел, відповідно, на 3-й день, але для зеленого світла це було 0,0088 г/л-д на 2-й день [31].

Виявилося, що семиденні результати не являють собою повний цикл зростання водоростей, за винятком червоного і зеленого світла, які послідовно демонструють більш низькі темпи зростання, що подовжують періоди зростання, які не ідеальні для практичного застосування. Ще один набір експериментів проводився з використанням синіх і прозорих світел протягом 12 днів. Результати показані на рис. 1.3.1(D). Криві зростання були дещо подібні (лінійний зростання) з тенденцією, що спостерігається в семиденних профілях зростання (рис. 1.3.1(A)). Можна побачити, що темпи зростання водоростей можна було порівняти між синіми і білими довжинами хвиль протягом періоду зростання 0-10 днів. Але також можна помітити, що темпи зростання водоростей для синього світла перевищили швидкість росту водоростей для білого світла (через 10 днів). Це показує, що швидкість росту водоростей (C. vulgaris) може посилюватися під синім світлом після періоду акліматизації [31].

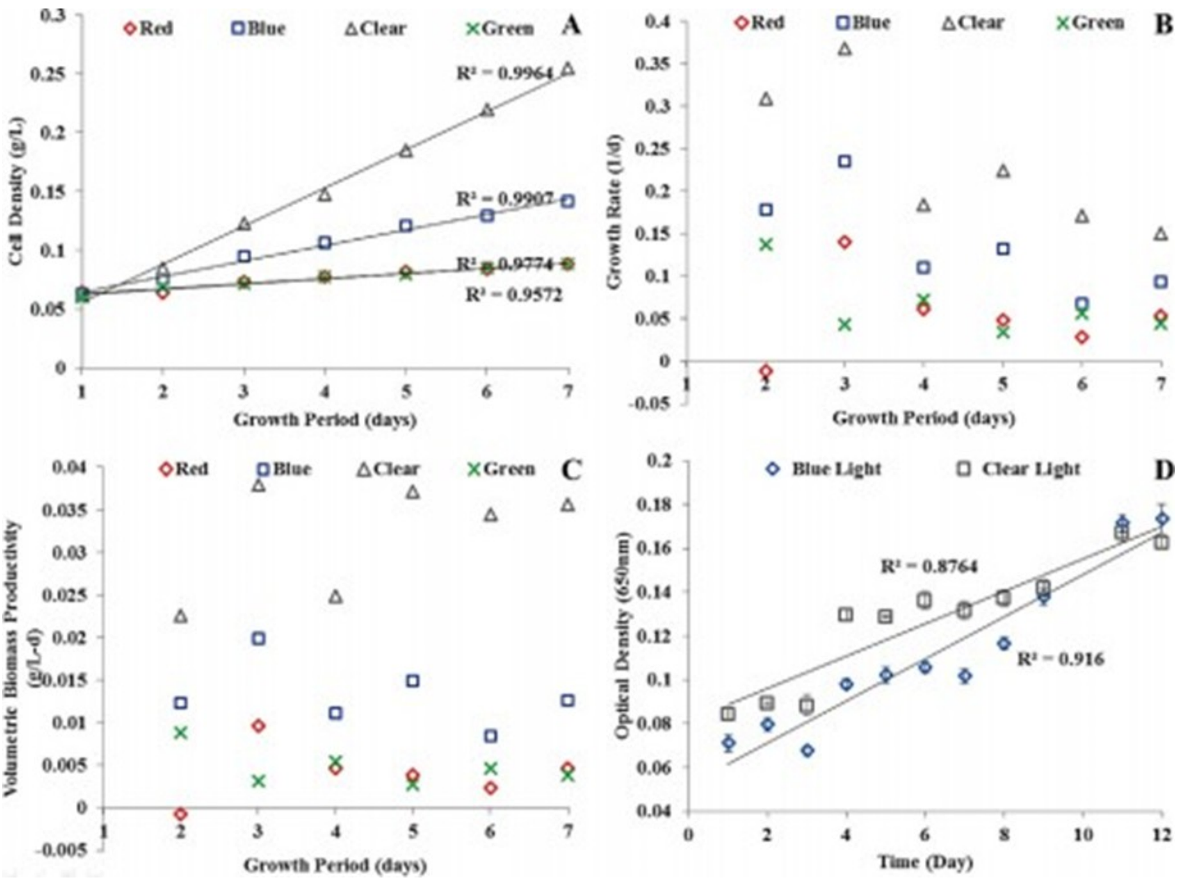


Рисунок 1.3.1 – Вплив довжини хвилі світла на: (A) – щільність осередку, (B) – темпи зростання, (C) – продуктивність об'ємної біомаси та (D) – оптична щільність протягом 12-денного періоду [31]

У [31] роботі червоне світло не показало більш високих темпів зростання. Це можна пояснити спостереженнями попередніх дослідників, які повідомили, що чисте червоне світло може фактично викликати пошкодження клітин, яке може бути викликане повільним і низьким впливом синього світла [33,34]. Крім того, слід зазначити, що питома здатність поглинання оптичної довжини хвилі залежить від типу водоростей, що означає їх клітинний склад, середу зростання і фізіологічні умови, як пояснювалося раніше. *Yan et al*. повідомили, що чисте (біле) і червоне світло показали більш високі темпи зростання C. vulgaris, проте їх дослідження проводилося між 6 і 10 днями, а їхнє середовище для вирощування було синтетичними високоміцними стічними водами [32]. Крім того, показники зростання залежать від інтенсивності світла [24].

З рис. 1.3.1(D) видно, що темпи зростання при синьому світлі (R^2 = 0,916), як видно, більш близькі до лінійного тренду, ніж білий світ (R^2 = 0,8764) або навіть вказують на тенденцію до експоненціальної фази росту. Хоча експоненціальна фаза зростання бажана з практичної точки зору, синє світло вимагає значного запізнення для досягнення експоненціального зростання. Таким чином, повільний темп зростання при синьому світлі не ідеальний для практичного застосування, оскільки чим швидше буде досягнута експоненціальна фаза, тим вище буде виробництво біомаси, тим коротше будуть обсяги ставка або фотобіореактора для виробництва водоростей, і тим коротше буде час збору врожаю [31].

В іншому дослідженні *Баргбані* та ін. [35] було отримано високе виробництво біомаси при використанні синього і жовтого світла. Результати з [36] дослідження узгоджується з їх дослідженням. У [35] роботі безперервне світло випромінювалося з люмінесцентних ламп різних кольорів з потужністю 23 Вт (рис. 1.3.2).

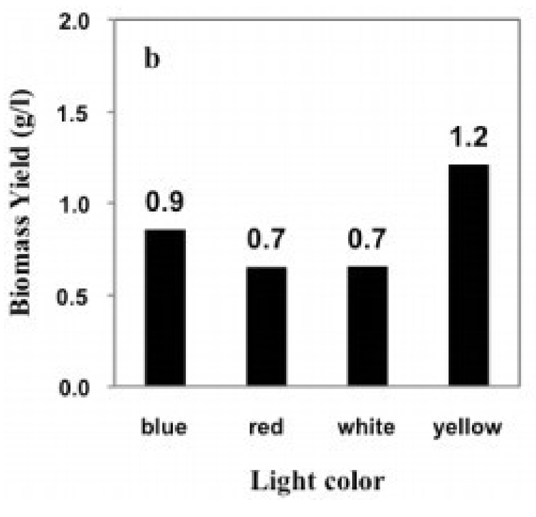


Рисунок 1.3.2 – Вплив різних кольорів на вихід екстрагованої біомаси (на сухій основі) протягом семи днів культивування в різних умовах цього дослідження згідно експериментального проекту Тагучі [35]

У цьому дослідженні були застосовані чотири різних кольори (білий, жовтий, синій і червоний) (рис. 1.3.2). C. vulgaris показали найкращу швидкість росту під жовтим світлом (з низькою енергією) (високий вихід фотосинтезу). Інші кольори (синій, білий і червоний) привели до декілька меншого виробництва біомаси.

В [29] роботі використовували світло-темний фотоперіод 16-8 годин і інтенсивність світла 100 мкмоль $м^{-2}с^{-1}$. Були застосовані шість різних кольорів світлодіодів (LED), що забезпечують вузькосмугове світло з різними довжинами хвиль: синє (460 нм), зелене (525 нм), жовте (585 нм), червоне (620 нм), фіолетове (вісім частини 660 нм і одна частина 460 нм) і білі (430-730 нм). Щоб уникнути змішування з іншими джерелами довжини хвилі, обробка світлодіодів була відокремлена. Температуру в камері встановлювали рівною 20°С. Експеримент проводили у вигляді періодичних культур з об'ємом 50 мл Z8 в 250 мл скляних колбах Ерленмейера. Початкова щільність становила 104 клітин на $мл^{-1}$, і експеримент закінчувався через 7 днів. В експерименті найкращий результат показало біле і синє світло. Аналіз світлової мікроскопії клітин в середовищі показав, що клітини, вирощені в синьому, фіолетовому або білому світлі, найчастіше об'єднуються у великі групи, тоді як клітини, вирощені в червоному, жовтому і зеленому світлі, в основному присутні в відокремленому стані (рис. 1.3.3). Ця різниця між обробками була очевидна вже через 4 дні зростання водоростей.

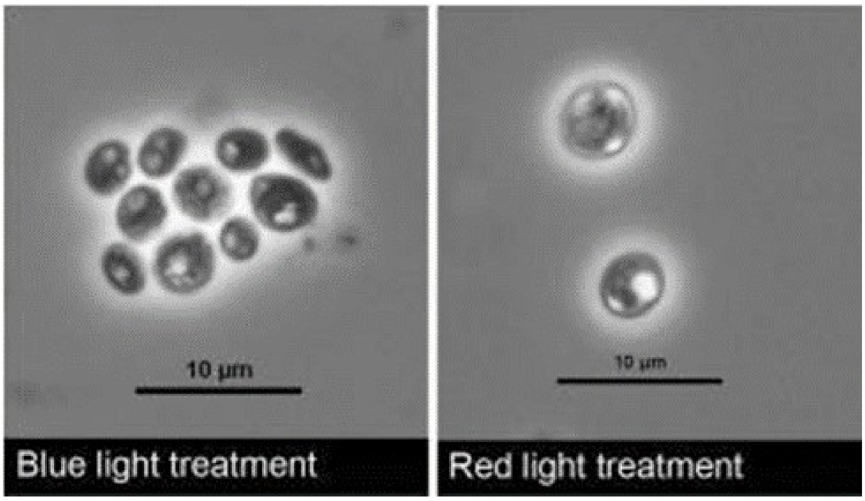


Рисунок 1.3.3 – Клітини Chlorella vulgaris після 7 днів зростання водоростей при опроміненні синім і червоним світлом. Клітини, вирощені в синьому (і пурпуровому або білому) світлі, були більш високо агреговані в великі групи, тоді

як клітини, вирощені в червоному (або жовтому і зеленому) світлі, в основному були присутні в одиночному стані [29]

Зростання мікроводоростей при різних довжинах хвиль (червоне, синє, природне біле і тепле біле) з різними інтенсивностями світла (50, 80 і 110 мкмоль м$^{-2}$с$^{-1}$) для інкубаційного періоду 8 днів показані на рис. 1.3.4 [33].

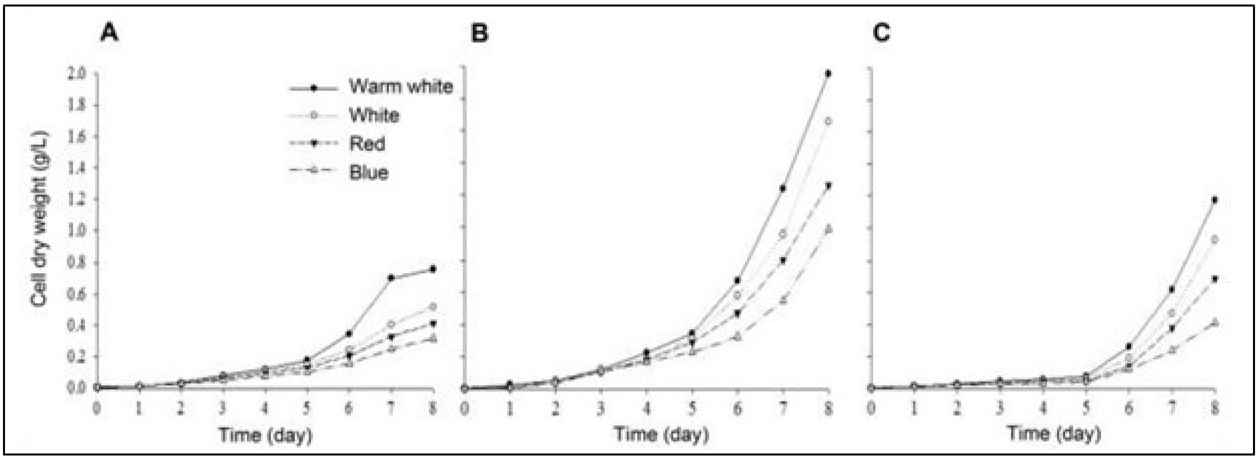


Рисунок 1.3.4 – Зростання клітин Chlorella vulgaris, культивованих при різних довжинах хвиль і інтенсивності світла: (A) – 50, (B) – 80 і (C) – 110 мкмоль м$^{-2}$с$^{-1}$ [33]

Тепле біле світло з 80 мкмоль м$^{-2}$с$^{-1}$ інтенсивності світла було оптимальним світлом для зростання мікроводоростей. Експерименти, що демонструють зростання мікроводоростей при інтенсивності світла 50 і 110 мкмоль м$^{-2}$с$^{-1}$ (рис. 1.3.4(A) і 1.3.4(C) відповідно), були нижче в порівнянні з інтенсивністю світла 80 мкмоль м$^{-2}$с$^{-1}$. Інтенсивність світла 50 мкмоль м$^{-2}$с$^{-1}$ була низькою для підтримки зростання мікроводоростей, але інтенсивність світла 110 мкмоль м$^{-2}$с$^{-1}$ була високою, щоб зробити фотоінгібірування. Отже, інтенсивність світла 80 мкмоль м$^{-2}$с$^{-1}$ була придатна для культивування Chlorella vulgaris [33].

Світло необхідне для фотосинтезу мікроводоростей. Однак надмірне або недостатньо падаюче світло обмежує оптимальну продуктивність з точки зору виходу біомаси або метаболітів. Фотосинтез і відповідне виробництво біомаси дійсно залежать від фотонного потоку. Коли інтенсивність світла недостатня, мікроводорості споживають вуглеводи під час фотодихання; хоча вони навряд чи заподіють смертельний збиток. Надмірна інтенсивність світла робить перевантаження фотосистем, відбілює пігменти і, нарешті, ламається у фотосистемі II. Отже, правильне освітлення є важливим фактором зростання мікроводоростей.

Колір падаючого світла ідеально повинен відповідати смузі поглинання пігменту, яка відповідає найнижчому збудженому стану. У разі хлорофілу смуги поглинання присутні як в синіх, так і в червоних спектральних областях [36]. Тому зростання C. vulgaris при теплом білому світі було вище в порівнянні з червоним і синім світлом індивідуально. C. vulgaris – це штам зелених водоростей, які складаються з хлорофіловий пігменту. Тепле біле світло (поєднання всіх довжин хвиль видимого світла), що забезпечує як червону, так і синю довжини хвилі, більш доречне для зростання C. vulgaris. Спектр червоних емісій ідеально узгоджується з фотоном, необхідним для досягнення перших збуджених станів «а» і «б» хлорофілів, пігментів, присутніх в комплексах світлових збірних антен (КСЗА) зелених водоростей. Синє світло (з яких фотони містять на 40% більше енергії, ніж ті, які становлять червоне світло) також можуть поглинатися хлорофілом. З цими фотонами електрони піднімаються до другого збудженого стану хлорофілу. Надлишкова енергія, яка присутня в синіх фотонах, втрачається у вигляді тепла. Синє світло, на перший погляд, не дуже добре підходить для фотосинтезу і з цієї причини можна вважати зайвим. Таким чином, хлорофіл в C. vulgaris міг ефективно поглинати червону, а не синю довжину хвилі світла. Але низькі інтенсивності синього світла можуть відігравати суттєву роль в регуляції росту клітин і метаболізму [36]. Однак як природне біле світло, так і тепле біле світло складаються з видимих світлових довжин хвиль (що складаються з червоних і синіх довжин хвиль), вони мають різні відносні криві потоку фотонів. Освітлююча інтенсивність теплого білого світла нижче в порівнянні з природним білим світлом на синій довжині хвилі. Тому тепле біле світло показало кращі результати, ніж природне біле світло.

У роботі [37], безперервне опромінення подавали при середній інтенсивності світла 100 мкмоль $м^{-2}с^{-1}$ під монохроматичним синім (430-465 нм) і червоним (630-665 нм) світлом. Результати показали, що конкретна довжина хвилі може дійсно впливати на зростання мікроводорості (рис. 1.3.5(а)).

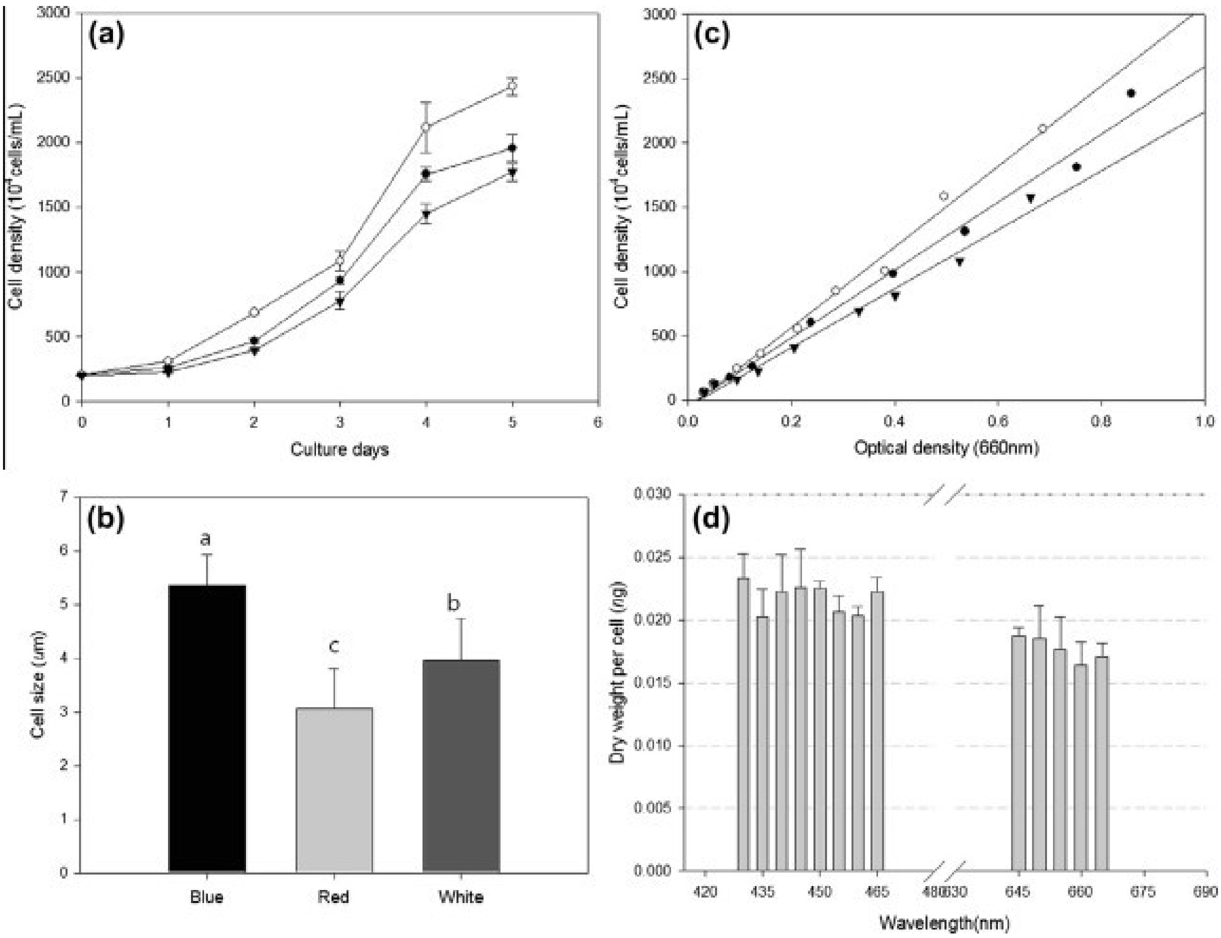


Рисунок 1.3.5 – Ефекти трьох різних довжин хвиль світлодіода, включаючи червоне (-○-), біле (- ● -) і синє (- ▼ -) на C. vulgaris. (a) – щільність клітин; (b) – розмір клітини; (c) – кореляція між числом клітин і OD (оптична щільність). Різні букви над лінією позначають значну різницю (P<0,05); (d) – суха вага на клітини, культивовані під іншою довжиною хвилі. Були відібрані вісім синіх (зліва) і п'ять червоних довжин хвиль (праворуч) [37]

Число клітин сильно залежало від довжини хвилі світла, так як C.vulgaris справила найвище і найнижче число клітин під червоним і синім світлом, відповідно. Щільність клітин C.vulgaris, вирощених при червоному світлі, була в 1,5 рази вище, ніж у синього світла в певний проміжок часу після інокуляції (рис. 1.3.5(a)). Ці результати узгоджуються з іншими видами мікроводоростей в тому, що червона довжина хвилі виявилася оптимальною як для Spirulina platensis, так і для Chlorella pyrenoidosa [38]. У [36] роботі йдеться мова про те, що червоне світло призводить до посилення пігментації хлорофілу, що може пояснити результати позитивного ефекту червоного світла. Так як червоне світло надло такий же вплив на зростання мікроводорості як у C. pyenoidosa, так і у S. platensis [38], відповіді на світлову довжину хвилі могли б бути еволюційними, що зберігаються між різними видами мікроводоростей. З іншого боку, біле світло призводить до середнього ступеня числа клітин, тоді як синє світло послідовно зменшуло рівень числа клітин. Одне з можливих припущень полягає в тому, що синє світло може пригнічувати поділ мікроводорослевих клітин, що призводить до більш низького рівня числа клітин.

Цікаво, що морфологія мікроводорослевих клітин, наприклад, розмір клітини C. vulgaris був значно змінений у відповідь на різну довжину хвилі світла. Розмір клітин C. vulgaris, культивованих під синім світлом, був більше, ніж при культивуванні під червоним світлом. Однак середній розмір клітин спостерігався під білим світлом (рис. 1.3.5(b)). Вимірювання розміру осередку C. vulgaris показало, що мікроводорослеві клітини, вирощені під синім світлом, мають приблизно 60-70% збільшення діаметра в порівнянні з вирощеними при червоному світлі (рис. 1.3.5(b)).

Щоб додатково перевірити ці спостереження, були проведені два незалежних аналізи. Перший метод заснований на кореляції між оптичною щільністю і числом клітин. Графіки кореляції між оптичними щільностями (OD) і числом клітин були побудовані для перевірки будь-якої зміни кореляції між синім і червоним світлом. Відповідно до спостережень за збільшенням розмірів осередків під синім світлом кореляційна крива була значно змінена синім світлом (рис. 1.3.5(c)). Значення вищих OD послідовно досягалися при певному числі клітин під синьою довжиною хвилі в порівнянні з тими, які були при червоній довжині хвилі (рис. 1.3.5(c)). Різниця в кореляції між синім і червоним світлом чітко відображає той факт, що спостерігалися значні зміни в морфологічній ознаці (відмінності в розмірі клітин) шляхом зміни довжини хвилі світла.

Крім того, була також розрахована відносна суха вага (г/клітина) з урахуванням кількості клітин. Щоб повністю порівняти ефект синього або червоного світла, вісім (430, 435, 440, 445, 450, 455, 460 і 465 нм) і п'ять (645, 650, 655, 660 і 665 нм) різних довжин хвиль світлодіодів були обрані з синього і червоного світла, відповідно. Очікується, що суху вагу на клітину можна помістити в дві категорії: синій або червоний. Знову ж, очевидно, що суха вага на осередок C. vulgaris була змінена опроміненням різної довжини хвилі світла (рис. 1.3.5(d)). Приблизно 30% приросту сухої ваги на осередок C. vulgaris спостерігалося шляхом зміни довжини хвилі від червоного до синього (рис. 1.3.5(d)). Лі і Палссон [39] продемонстрували, що червоне світло призводило до менших клітин, ніж до світла повного спектра через раннє виділення автоспори при червоному світлі. Незважаючи на те, що всі ці попередні дослідження не призначалися для систематичного порівняння синього і червоного світла, вони частково надали докази того, що поділ клітин може бути прискорено або відкладено при червоному і синьому світлі. Ймовірно, що диференціальна швидкість поділів клітин або прогресування клітинного циклу під синім або червоним світлом може бути основним механізмом спостереження за різним розміром осередку при червоному або синьому світлі. Відповідно до цих результатів в цьому дослідженні ясно вказують на те, що морфологія C. vulgaris розміру клітин значно трансформувалася в більш великі клітини при впливі синього світла в порівнянні з тим, що були під червоним світлом.

Оскільки, теоретично, синє світло має особливість високої енергетичної довжини хвилі, розумно припустити, що клітини C. vulgaris можуть накопичувати вищу ступінь стресу під синім світлом. Для подальшого розуміння механізмів чутливого стресу в мікроводорослевих клітинах при певній довжині хвилі світла, особливо синього світла, було досліджено ступінь клітинного стресу шляхом вимірювання активних форм кисню (АФК).

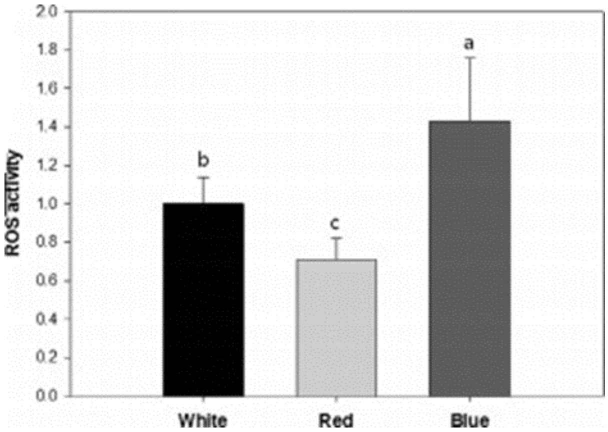


Рисунок 1.3.6 – Активність АФК C. vulgaris, вирощеної під червоним, синім або білим світлом. Різні букви над лінією позначають значну різницю (P <0,05) [37]

Як правило, АФК є типовими молекулярними медіаторами різних стресів в клітині широкого кола живих видів. Для виявлення та кількісного визначення генерації АФК в клітинах C. vulgaris при різній довжині хвилі світла використовувався стандартний протокол фарбування нітроцементного тетразолію. Активність реакційноздатного кисню C. vulgaris, що культивується під трьома різними довжинами хвилі світла (червоне, синє і біле), була ретельно порівняна з трьома біологічними повтореннями (рис. 1.3.6). Кількісна оцінка показала, що культивування під синім світлом значно показало (P <0,05) більш високу ступінь АФК, ніж при білому або червоному світлі (рис. 1.3.6). Аналіз на рівні АФК показав, що клітини, вирощені під синім світлом, мали приблизно 40% збільшення АФК, тоді як клітини, вирощені під червоним світлом, показали зниження рівня АФК на 30% (рис. 1.3.6). Ці дані ясно показали, що синя довжина хвилі привела до підвищення рівня клітинної АФК, тоді як червоне світло зменшувало рівень АФК в C. Vulgaris [41].

Раніше повідомлялося, що більш короткі довжини хвиль, такі як синє і зелене світло, забезпечують більшу енергію для фотосинтезу, тим самим викликаючи фотоінгібірування [40]. З іншого боку, червоне світло має протилежну особливість довшої довжини хвилі, можливо, зменшуючи ефект фотоінгібірування [36]. Однак не було прямих або непрямих доказів, які б свідчили про участь АФК в цих мікроводорослевих фенотипах при різних довжинах хвиль світла. У цьому дослідженні було спочатку продемонстровано, що механізм(-и) стресу, пов'язаний(-

ні) з АФК, може(-уть) допомогти пояснити фотоінгібірування мікроводоростей при синьому світлі. Крім того, рівень АФК був добре корельований з розмірами осередку C.vulgaris при експозиції червоного і синього світла (рис. 1.3.5(d) та рис. 1.3.6). Отже, можна припустити, що збільшення генерації АФК через синє світло може бути пов'язано зі збільшенням морфології розмірів клітин в C. vulgaris. Результати показують, що синє світло викликає окислювальний стрес в клітинах C. vulgaris, що призводить до того, що клітинне перетворення в більш великі клітини справляється з несприятливим станом високим енергетичним опроміненням від синього світла [37].

Примітно, що клітинна морфологія розмірів була значно змінена в залежності від довжини хвилі світла. Червоне світло збільшило поділ клітини, приводячи до появи невеликих клітин, тоді як синє світло призводить до збільшення розміру клітин. Якщо припустити, що різні розміри клітин можуть відображати різні клітинні потенціали, що містять різну ступінь поживних речовин або білків для наступних клітинних поділів. Виходячи з цього, можна припустити, що генерація мікроводорослевих клітин з більшими розмірами на початковому етапі культивування може сприяти подальшому поділу клітин на більш пізній стадії росту, що призведе до підвищення продуктивності біомаси [37]. Щоб перевірити гіпотезу, у [37] роботі взяли адекватну маніпуляцію опроміненням довжини хвилі LED як спосіб генерувати різний розмір мікроводорослевих клітин в різні моменти часу зростання. Експерименти проводилися за допомогою зсуву довжини хвилі світла в різні моменти часу. Набір експериментів складався з п'яти різних світлових опромінень: безперервного синього або червоного світла; спочатку синім світлом, а потім зміщеним в червоне світло або навпаки. Світлова довжина хвилі була зрушена або синім, або червоним після 24, 48, 72 і 96 годин культивування. Експериментальні результати, отримані за допомогою зрушень по довжині хвилі, позначалися як форма R1B4 (1-денне червоне світло, а потім 4-денне синє світлове підсвічування) або B1R4 (1-денне синє світло, а потім 4-денне червоне підсвічування) і так далі.

Вперше було досліджено вміст хлорофілу в якості індикатора клітинної фізіології. Зміна вмісту хлорофілу в клітинах C. vulgaris на різних довжинах хвиль червоного або синього світла або при зсуві довжини хвилі було показано на рис. 1.3.7. Примітно, що вміст хлорофілу C. vulgaris сильно залежало від довжини хвилі світла. Наприклад, синє та червоне світло призводило до високого і низького вмісту хлорофілу, відповідно. Ці дані узгоджуються з нашим попереднім спостереженням за різними розмірами осередків на червоному або синьому світлі, оскільки синє світло призводить до збільшення розміру клітин, можливо, що містить більш високі клітинні компоненти, включаючи хлорофіл. Цікаво відзначити, що культивування мікроводоростей, перенесених з синього на червоне світло, призвело до негайного зниження вмісту хлорофілу (рис. 1.3.7). Після перенесення на червоне світло більш високий вміст хлорофілу в синьому світлі стало майже на тому ж рівні, що і при червоному світлі (рис. 1.3.7). Зниження хлорофілу відбулося протягом 24 годин після перенесення з синього на червоний. Ці дані знову припустили, що мікроводорослеві клітини з унікальною фізіологією можуть бути отримані шляхом маніпуляції з різною довжиною хвилі світла [37].

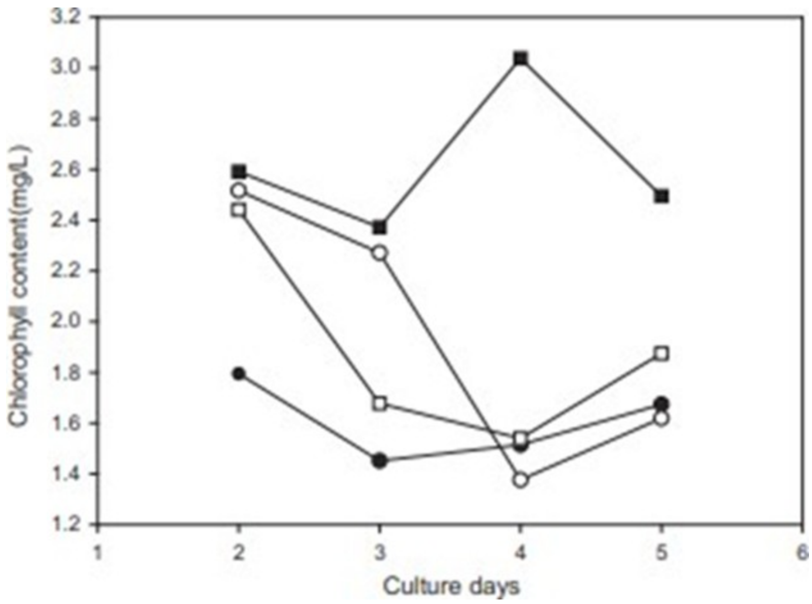


Рисунок 1.3.7 – Зміни вмісту хлорофілу при різних умовах опромінення. Вміст хлорофілу під безперервним червоним (- ● -) або синім світлом (- ■ -) в порівнянні з

вмістом зсуву довжини хвилі (від синього до червоного) в різні моменти часу (2 дні (- □ -) або 3 дні після інокуляції (- ○-)) [37]

Потім були ретельно порівняні показники біомаси між безперервним синім або червоним світлом і зрушеннями по довжині хвилі. Під безперервним червоним світлом продуктивність C. vulgaris була аналогічна продуктивності при білому світі, тоді як синє світло призводило до зниження виробництва (рис. 1.3.8). Результати показали, що просте синє освітлення не сприяло зростанню C. vulgaris. Однак, як і очікувалося, відповідне переключення довжини хвилі може привести до збільшення виробництва біомаси в порівнянні з безперервним монокольоровим червоним або синім світлом (рис. 1.3.8). Зокрема, синє світло спочатку, а потім перемикання на червоне світло (B2R3 і B3R2), показало кращу продуктивність у порівнянні з іншими. Спостерігалося підвищення приблизно на 18-20% як в B2R3, так і в B3R2 [37].

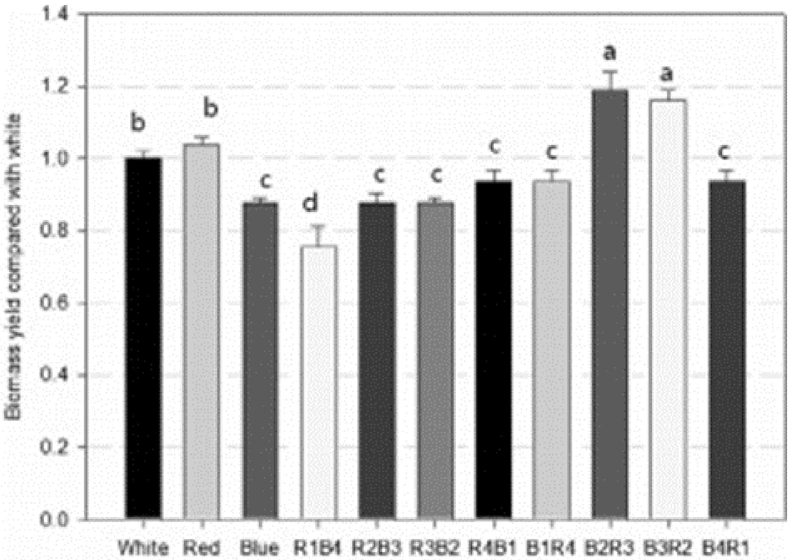
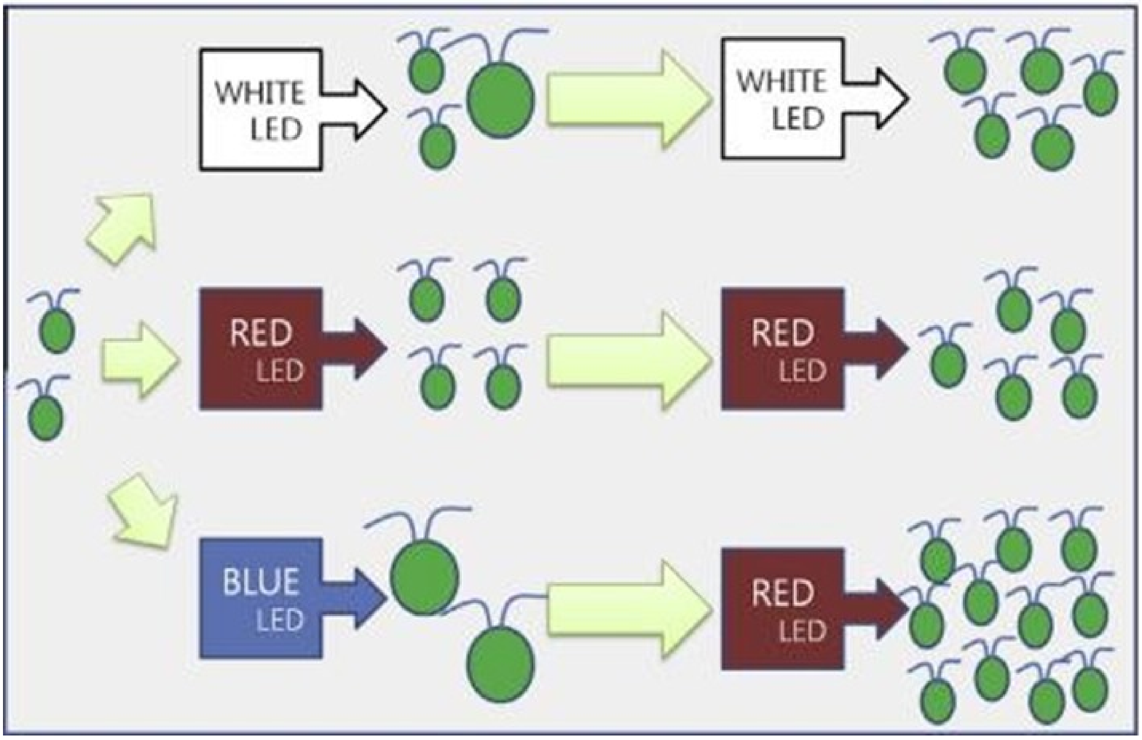


Рисунок 1.3.8 - Продуктивність біомаси, отримана з безперервного одноколірного опромінення або зсуву довжини хвилі. Експериментальні результати, отримані за допомогою зрушень по довжині хвилі, позначалися формою R1B4 (1-денне червоне світло, а потім 4-денне синє світлове підсвічування) або B1R4 (1-денне синє світло, а потім 4-денне червоне підсвічування) і т.д. Різні букви над лінією позначають значну різницю (P<0,05) [37]

Спочатку розгортання червоного кольору, а потім перехід до синього світла (R1B4, R2B3, R3B2, R4B1) показало зниження мікроводорослевого зростання. Можливим поясненням цих спостережень є те, що клітини C. vulgaris схильні до червоного світла для клітинного ділення, що генерує дрібні клітини. Ці осередки невеликого розміру повинні володіти нижчу здатність або потенціал для збільшення обсягу осередку навіть при наступному синьому опроміненні. Навпаки, початкове опромінення синього світла індукує клітини більшого розміру з високими потенціалами для подальшого поділу під червоним світлом, тим самим покращуючи загальне виробництво. Альтернативно, світлова довжина хвилі синього або червоного кольору впливає на клітинний цикл C. vulgaris і, таким чином, призводить до диференціальної швидкості прогресування клітинного циклу. Наприклад, клітини C. reinhardtii, культивовані під синім світлом, мають більший розмір клітин через вплив синього світла на клітинний цикл, тим самим маючи високі потенціали для подальшого клітинного ділення [41]. У зв'язку з цим, маніпулюючи довжиною хвилі світла від синього до червоного, можна було змінити прогресування клітинного циклу C. vulgaris, що, в свою чергу, призвело до збільшення продуктивності біомаси. Взяті разом, ілюстрація можливого пояснення результатів була представлена на малюнку 1.3.9.



Малюнок 1.3.9 - Позитивна модель, що пояснює різні морфологічні прогресії C. vulgaris при різній довжині хвилі світла.

Синє світло може збільшити розміри осередків, в той час як червоне світло підсилює клітинні ділення. Отже, було запропонувано нову стратегію культивування мікроводоростей на основі зміни довжини хвилі світла (від синього до червоного). Таким чином, мікроводорослеві клітини з великим розміром можуть генеруватися на початковому етапі культивування. Великі мікроводорослеві клітини повинні володіти величезним потенціалом для поділу клітин. Таким чином, при опромінення червоним світлом потім сприяє подальшому поділу клітин на більш пізній стадії росту, що призводить до підвищення продуктивності біомаси, а також до виробництва ліпідів [37].

Єдиний виняток для цього поняття знайдено в B1R4 і B4R1. Припущено, що має бути оптимальний час для перемикання довжини хвилі (від синього до червоного), оскільки воно неефективно, якщо воно застосовується в дуже ранні або занадто пізні моменти часу. За допомогою адекватного опромінення синім світлом мікроводорослеві клітини стають більше і готові до наступного вибуху клітинних поділів. З іншого боку, червоне світло повинно прискорити поділ клітин як екологічний сигнал. Тому червоне світло добре поєднується з пізньою експоненціальною фазою. Кілька ліній досліджень показали, що 0-48 год і 48-120 годин після інокуляції можна в цілому класифікувати як лаг і експонентну фазу відповідно. Отже, основна причина спостереження про існування оптимального часу (B2R3 і B3R2) для перемикання довжини хвилі може бути пояснена періодом для відставання або експоненціальної фази. Крім того, було відомо, що синє світло бере участь в активації ферменту, тим самим регулюючи транскрипцію гена, виведення енергії і в кінцевому рахунку впливає на клітинний цикл [34, 41].

2 Апаратурно-технологічна схема виробництва ефірів жирних кислот з біомаси мікроводоростей *Chlorella vulgaris*

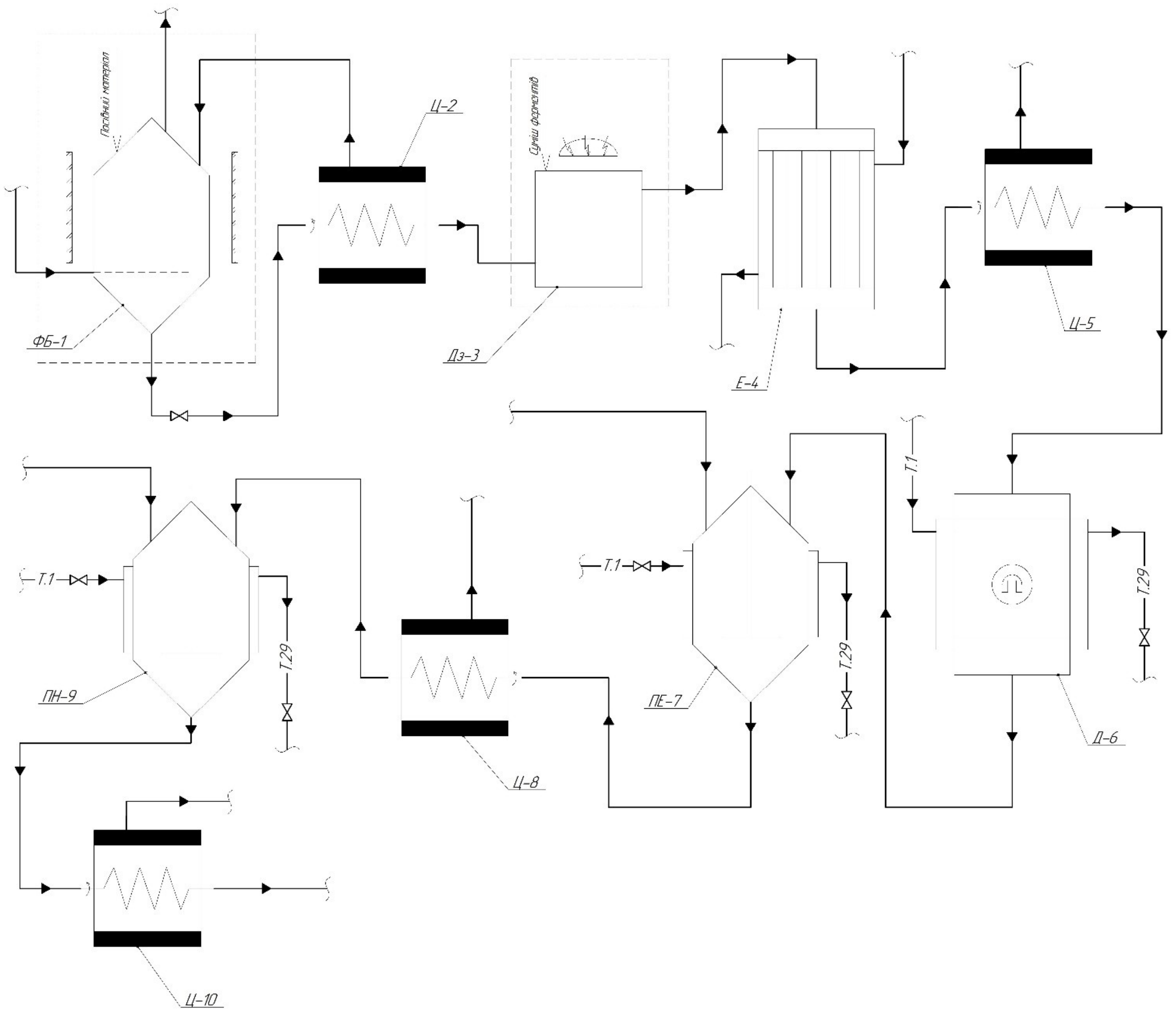


Рисунок 2.1 – Апаратурно-технологічна схема виробництва ефірів жирних кислот (ЕЖК) з біомаси мікроводоростей *Chlorella vulgaris*

При пуску виробництва у фотобіореактор ФБ-1 завантажують живильне середовище *Тамійя OPTIMUM* при температурі Т=30°С і невелику кількість посівного матеріалу, а також подають газоповітряну суміш, що містить 0.0393% CO_2. У робочому обсязі фотобіореактора створюється інтенсивне випромінювання світлодіодними лампами освітлювальних блоків. (Один освітлювальний блок дає інтенсивність випромінювання ≈250 мкмоль фотонів / (м2 · с)). При цих умовах в фотобіореакторі здійснюється зростання біомаси. На четверту добу культивування в живильне середовище подають азотомістку сіль. Побічним продуктом реакції фотосинтезу є кисень, який видаляється з фотобіореактора. Стадія зростання біомаси триває до тих пір, поки концентрація біомаси не стане рівною 55 млн кл / мл (≈7-8 діб культивування). Після цього у суспензію додають живильне середовище *Тамійя OPTIMUM* без азотомісткої солі. Процес культивування в умовах стресу здійснюють в фотобіореакторі 6-7 діб, поки кількість внутрішньоклітинних ліпідів в клітинах не досягне 31% від сухої речовини клітини. Після цього половина вмісту фотобіореактора ФБ-1 поступово відбирається і подається у центрифугу Ц-2, де відбувається поділ вологої біомаси та води. Далі відокремлена вода знову подається у фотобіореактор. Паста мікроводоростей вологістю 98% надходить в дезінтегратор Дз-3, де за допомогою комплексного впливу НВЧ-випромінювання і суміші ферментів «Целлолюкс А» і «Протосубтілін г3х» здійснюється руйнування клітин мікроводоростей. Пасту мікроводоростей зі зруйнованими клітинами подають у екстрактор Е-4, куди додається суміш екстрагентів петролейний ефір і етанол (2:1 (об.)) у співвідношенні 1 г біомаси до 20 мл суміші екстрагентів. Екстракцію проводять при температурі 50°С. Мікроводорості і місцелу подають в центрифугу Ц-5, де відділяється шрот і спиртова місцела. Місцелу з неполярними ліпідами (ліпіди, розчинені в петролейному ефірі) подають в дистилятор Д-6, де відганяється екстрагент. Ліпіди мікроводоростей подають в пристрій для проведення реакції етерифікації ПЕ-7, куди додається етиловий спирт в співвідношенні з ліпідами 6:1 (мол.). Процес етерифікації проводять при температурі 60°С, використанням лужного каталізатора - гідроксиду натрію 3% (від маси ліпідів). Потім суміш ефірів жирних кислот і гліцерину подають в центрифугу Ц-8, де відбувається відділення гліцерину. Ефіри жирних кислот надходять в пристрій для проведення реакції нейтралізації залишків лужного каталізатора ПН-9 водним розчином лимонної кислоти. Далі суміш надходить в центрифугу Ц-10, де відбувається поділ ЕЖК і домішок, які відділяються у вигляді солей.

3 Практична реалізація розробленої конструкції лабораторного фотобіореактора

3.1 Призначення та область застосування лабораторного фотобіореактора

На сьогоднішній день у біотехнологічній промисловості широкого розповсюдження набули фотобіореактори, які відрізняються різноманітними конструкціями.

Способів вирощування водоростей достатньо, наприклад, в штучних ставках або в фотобіореакторах. Спосіб вирощування в штучних ставках більш економічний, але дає менше врожаю. Крім того, при такому способі дуже важко контролювати чистоту штамів мікроорганізмів, тому для майбутнього розвитку цього напрямку доцільніше розглядати вирощування водоростей у біореакторах. Фотобіореактори забезпечують велику врожайність за короткий час та можуть використовуватись будь-де, незважаючи на екологічні та кліматичні умови. Крім того, вони дозволяють впливати на якість вирощуваної біомаси, а саме – на вміст масла у сировині. Бо, хоча водорості є високоефективними перетворювачами сонячної енергії у відновлювану біомасу, більшість відомих водоростей запасає сонячну енергію у вигляді цукрів, а не у вигляді необхідних масел (жирів або ліпідів), тобто триацилгліцеридів або фосфоліпідів [42].

У фотобіореакторах є можливість створити найбільш сприятливі умови для культивування у біомасі саме тих речовин, які потрібні в тому чи іншому випадку. Вони дозволяють забезпечити водорості необхідними поживними речовинами, вуглекислим газом, стабільним значенням pH середовища, підтримкою осмотичності середовища, однорідністю складу середовища, забезпечують контроль та регулювання температури середовища.

3.2 Обґрунтування вибору проектованого лабораторного фотобіореактора

Для дослідження вирощування мікроводоростей кращим вибором буде лабораторний фотобіореактор. Серед усіх видів фотобіореакторів було розглянуто багато установок, що відрізняються своїми конструктивними особливостями.

Лабораторний фотобіореактор, що містить прозорий корпус, виготовлений із скла, та систему його освітлення денним або штучним світлом. Корпус безпосередньо лабораторного фотобіореактора оснащений мішалкою, яка приводиться в дію редукторним електродвигуном, встановленим співвісно з віссю мішалки. Реактор сполучений з додатковою ємністю трубкою, в розрив якої встановлений циркуляційний насос, та містить пристрій, що регулює температуру біосуспензії.

Недоліком цього рішення є те, що, в процесі вирощування мікроводоростей, вони вкривають скляну стінку лабораторного фотобіореактора та заважають проникненню світла у середину об’єму.

Фотобіореактор трубчатого типу установки для культивування мікроводоростей з системою ерліфт, системою подачі барботажної суміші, вуглекислого газу та повітря, та системою освітлення, що контролюється за допомогою реле часу. Недоліком цього рішення є те, що в ньому відсутня можливість примусової циркуляції біосуспензії і, відповідно її барботування, бо перемішування біосуспензії здійснюється повільно тільки за рахунок аерліфту, а також відсутня вбудована система насичення біосуспензії вуглекислотою. Крім того, як і в попередньому випадку, можливе заростання прозорого корпусу мікроводоростями, що погіршує освітленість всього об’єму.

Для даного дипломного проекту було обрано лабораторний фотобіореактор, корпус якого виконаний з гофрованого полімеру, армованого стальною пружиною та який освітлюється лампами денного світла з віддзеркалювальними екранами. Даний лабораторний фотобіореактор шляхом перемішування середовища потоком вуглекислого газу, що подається через барботер, закріплений на днищі, і зворотно-поступальним рухом корпусу, за рахунок стиснення і розтягування гофри, попереджає обростання стінок шаром мікроводоростей та надає можливість рівномірного надходження світлової енергії від встановлених ламп з віддзеркалювальним екраном до клітин культури, що, також, покращує тепломасообмін.

Для проектування даного лабораторного фотобіореактора (Рис. 3.2.1) було обрано гофрований корпус з полімеру, армованого стальною пружиною, тому що він є прозорим та дає змогу струшувати мікроводорості, що закріпились, зі стінок шляхом примусового зворотно-поступального руху. У корпусі закріплені кришка та днище за допомогою різьбових хомутів, що надають надійне та герметичне з’єднання з корпусом. Штуцер необхідний для підведення барботажної суміші, що подається компресором; штуцер – для відведення відпрацьованої барботажної суміші. Вибір ламп з віддзеркалювальним екраном надає нам необхідне освітлення для рівномірного росту мікроводоростей по усьому об’єму лабораторного фотобіореактора.

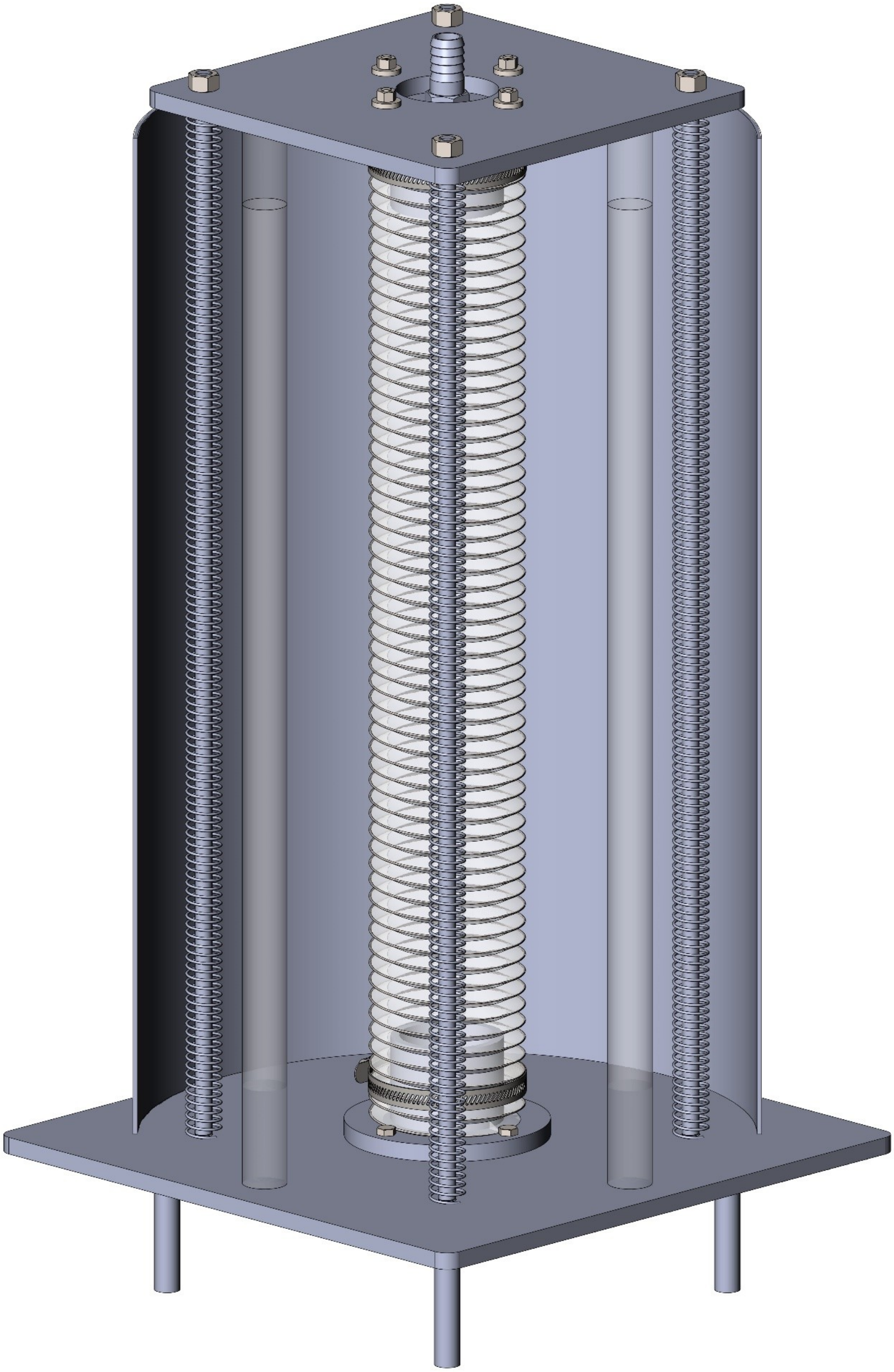


Рисунок 3.2.1 – проектований лабораторний фотобіореактор

3.3 Опис та новизна конструкції лабораторного фотобіореактора

Лабораторний фотобіореактор належить до області біотехнології, зокрема до дослідження вирощування мікроводоростей в закритій ємності з штучним світлом.

Відомий лабораторний фотобіореактор містить прозорий корпус, виготовлений із скла, та систему його освітлення денним або штучним світлом. Корпус безпосередньо лабораторного фотобіореактора оснащений мішалкою, яка приводиться в дію редукторним електродвигуном, встановленим співвісно з віссю мішалки. Реактор сполучений з додатковою ємністю трубкою, в розрив якої встановлений циркуляційний насос, та містить пристрій, що регулює температуру біосуспензії. Недоліком цього рішення є те, що, в процесі вирощування мікроводоростей, вони вкривають скляну стінку лабораторного фотобіореактора та заважають проникненню світла у середину об’єму. [43]

Найбільш близьким за технічною суттю до заявленої корисної моделі є фотобіореактор трубчатого типу установки для культивування мікроводоростей з системою ерліфт, системою подачі барботажної суміші, вуглекислого газу та повітря, та системою освітлення, що контролюється за допомогою реле часу. Недоліком цього рішення є те, що в ньому відсутня можливість примусової циркуляції біосуспензії і, відповідно її барботування, бо перемішування біосуспензії здійснюється повільно тільки за рахунок аерліфту, а також відсутня вбудована система насичення біосуспензії вуглекислотою. Крім того, як і в попередньому випадку, можливе заростання прозорого корпусу мікроводоростями, що погіршує освітленість всього об’єму. [44]

В основу корисної моделі поставлена задача удосконалення лабораторного фотобіореактора шляхом перемішування середовища потоком вуглекислого газу, що подається через барботер, закріпленому на днищі і зворотно-поступальним рухом корпусу, за рахунок стиснення і розтягування гофри, тобто попередження обростання стінок шаром мікроводоростей, рівномірне надходження світлової енергії від встановлених ламп з віддзеркалювальним екраном до клітин культури та покращення тепломасообміну.

Новим є те, що корпус лабораторного фотобіореактора виконаний з гофрованого полімеру, армованого стальною пружиною та освітлюється лампами денного світла, які встановлені з віддзеркалювальними екранами.

Сутність корисної моделі пояснюється кресленням, на якому наведено схему лабораторного фотобіореактора (Рис. 3.3.1).

Лабораторний фотобіореактор складається з: кришки 1, днища 2, які закріплені у гофрованому, армованому стальними пружинами, корпусі 3 за допомогою різьбових хомутів 4. В днищі 2 закріплений штуцер 5 для подачі барботажної суміші (вуглекислого газу та повітря) за допомогою компресора 6, а на кришці 3 встановлений штуцер 7 для відведення відпрацьованої барботажної суміші. Навколо корпуса 3 встановлені лампи 8 денного світла з віддзеркалювальним екраном 9.

Лабораторний фотобіореактор працює наступним чином:

В лабораторний фотобіореактор, при знятій кришці 1, заливають живильне середовище та посівний матеріал. Кришка 1 закріплюється в корпусі 3 за допомогою різьбового хомута 4. Через нижній штуцер 5 подається барботажна суміш компресором 6 для забезпечення водоростей необхідною кількістю вуглекислого газу та повітря. Відпрацьована барботажна суміш виводиться через штуцер 7, що встановлений у кришці 1. В процесі вирощування мікроводоростей корпус 3 лабораторного фотобіореактора періодично стискується та розтягується для перемішування суміші та струшування зі стінок корпусу лабораторного фотобіореактора мікроводоростей, які закріпились. Освітлення здійснюється лампами 8 денного світла, встановлених з віддзеркалювальним екраном 9, що забезпечує більш ефективне освітлення.

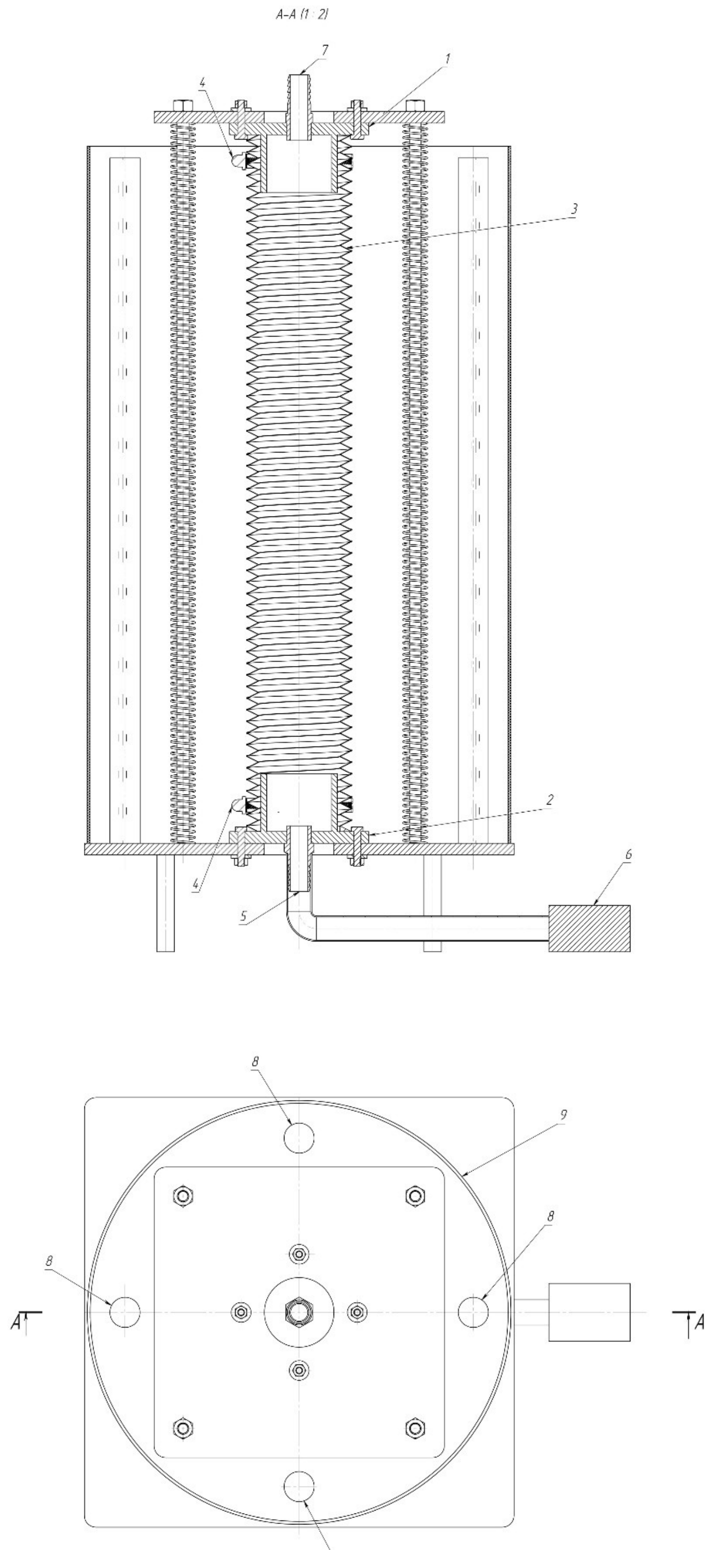


Рисунок 3.3.1 – Схема лабораторного фотобіореактора

1 – кришка; 2 – днище; 3 – корпус; 4 – різьбові хомути; 5 – штуцер для підведення барботажної суміші; 6 – компресор; 7 – штуцер для відведення відпрацьованої барботажної суміші; 8 – лампи; 9 – віддзеркалювальний екран.

3.4 Комп'ютерні розрахунки, що підтверджують працездатність конструкції лабораторного фотобіореактора

Усі розрахунки проведені за допомогою програмного забезпечення ANSYS, оскільки конструкція апарата є не типовою.

3.4.1 Модель роботи барботера у лабораторному фотобіореакторі. Модель швидкостей та об'ємна частина CO_2 у лабораторному фотобіореакторі

Для того, щоб порахувати навантаження корпусу апарату внутрішнім тиском, необхідно розрахувати тиск, який буде створюватись подачею суміші повітря та CO_2.

Дослід перший. Задана швидкість – 1,5 м/с. Час проведення експерименту 1 секунда.

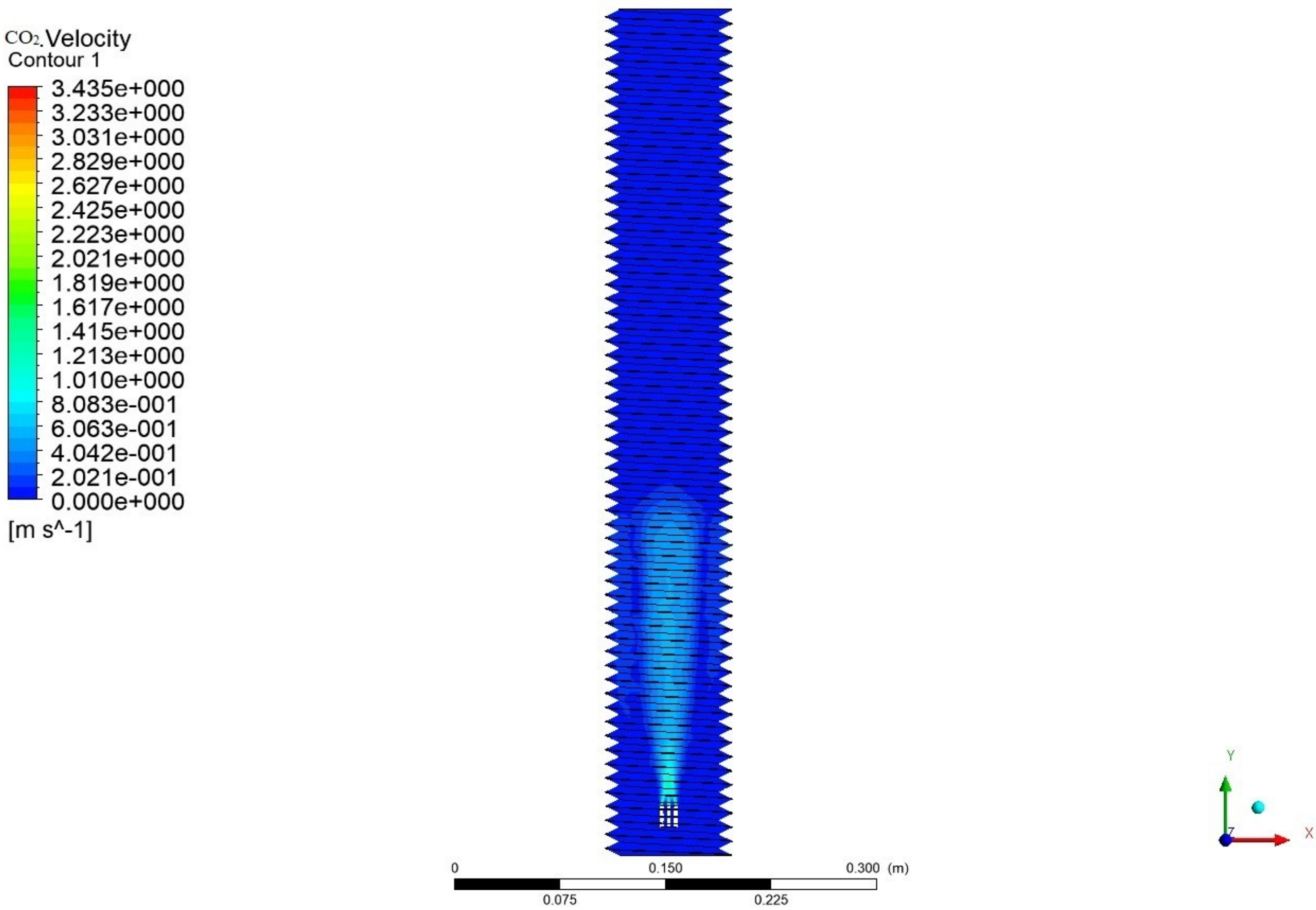


Рисунок 3.4.1.1 – Розподіл швидкостей CO_2 по об'єму апарата

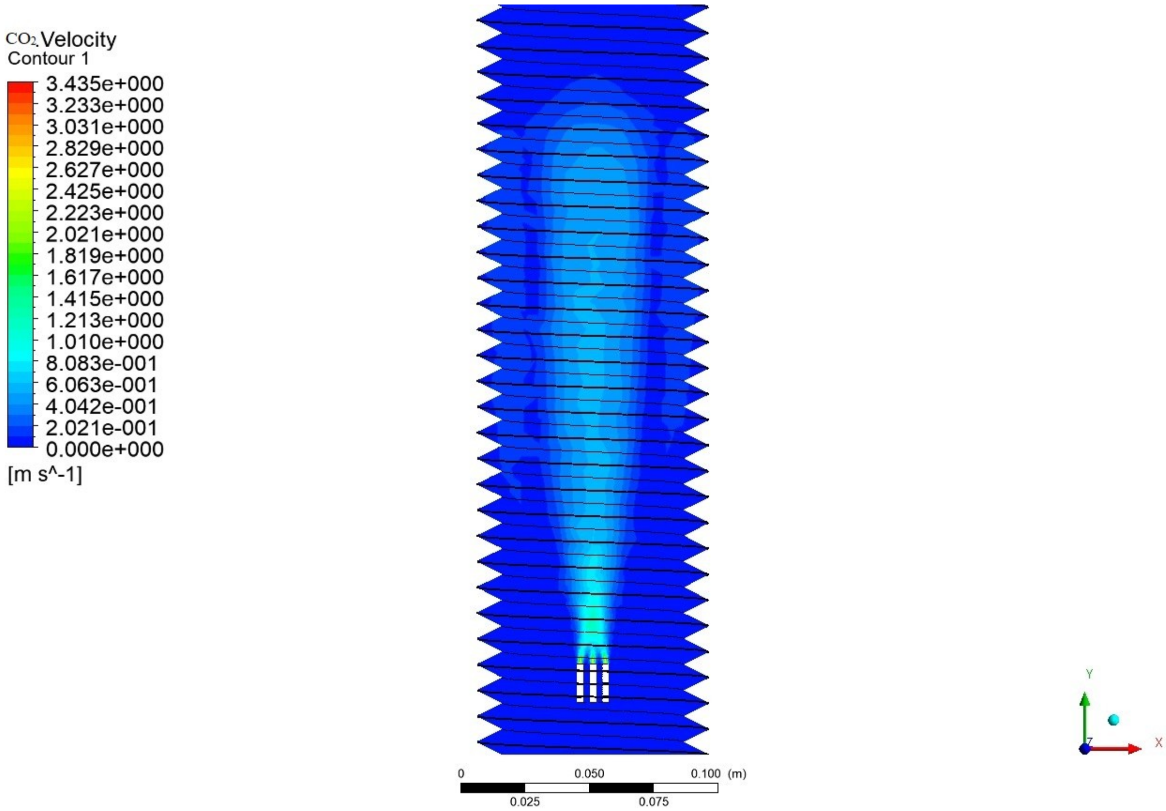


Рисунок 3.4.1.2 – Розподіл швидкостей CO_2 по об’єму апарата. Збільшений масштаб

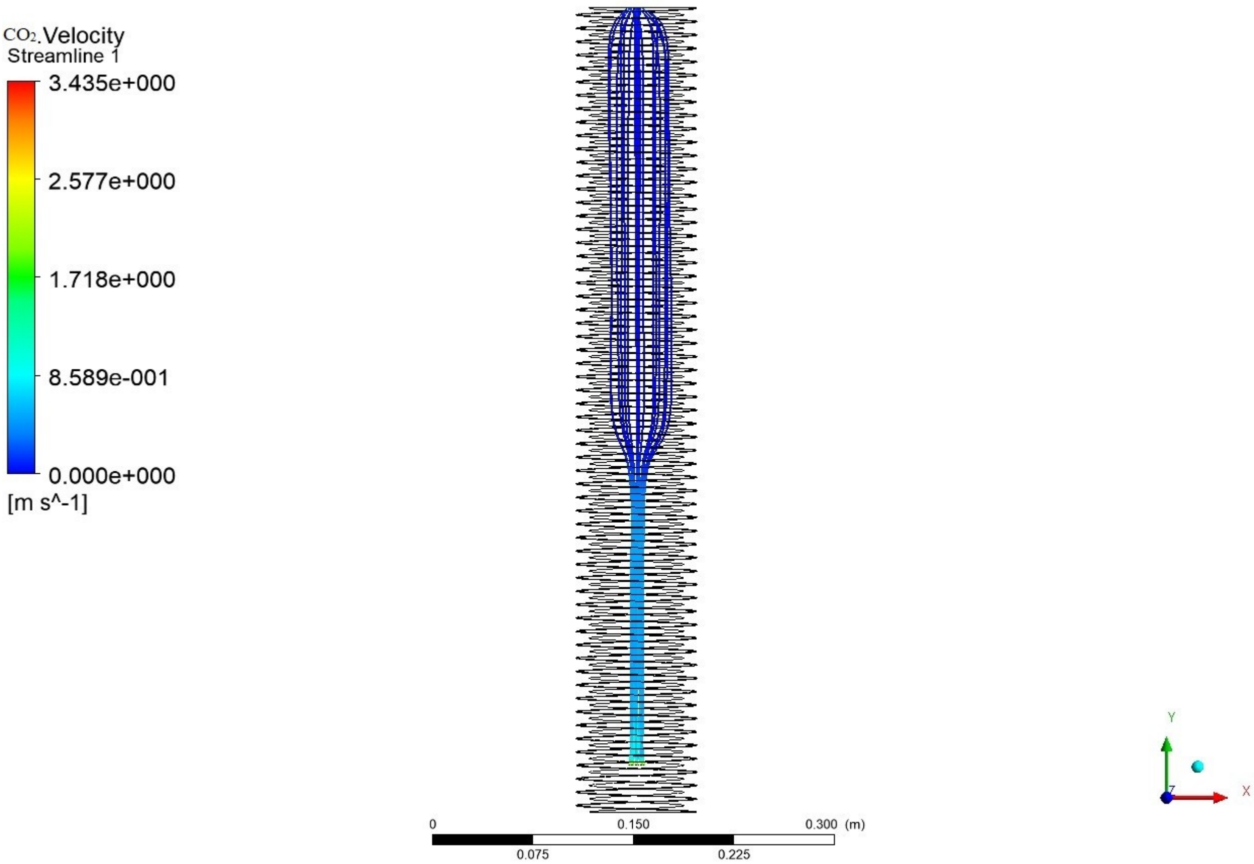


Рисунок 3.4.1.3 – Стрімлайни руху CO_2 у об'ємі апарату

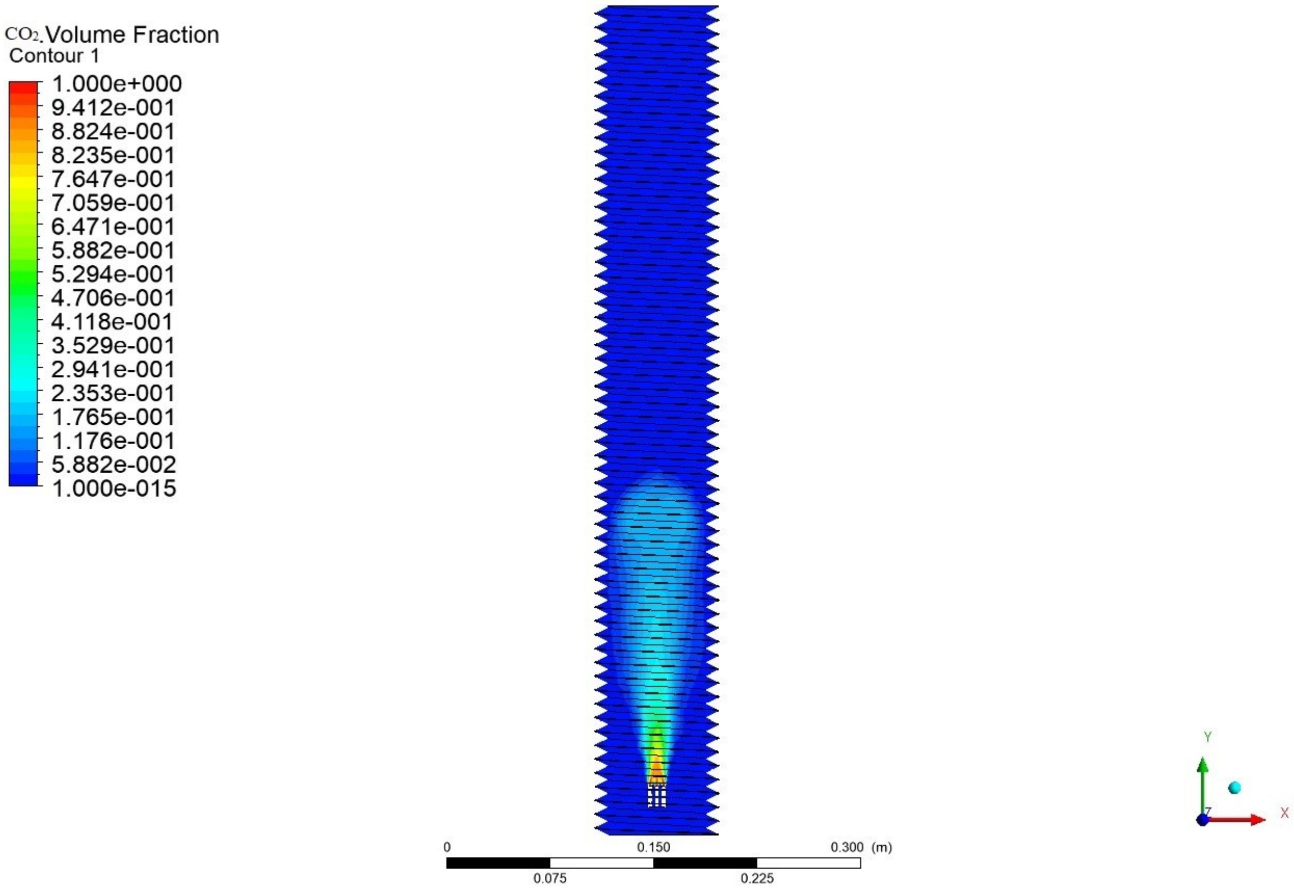


Рисунок 3.4.1.4 – Об’ємна частина CO_2 у об'ємі апарату

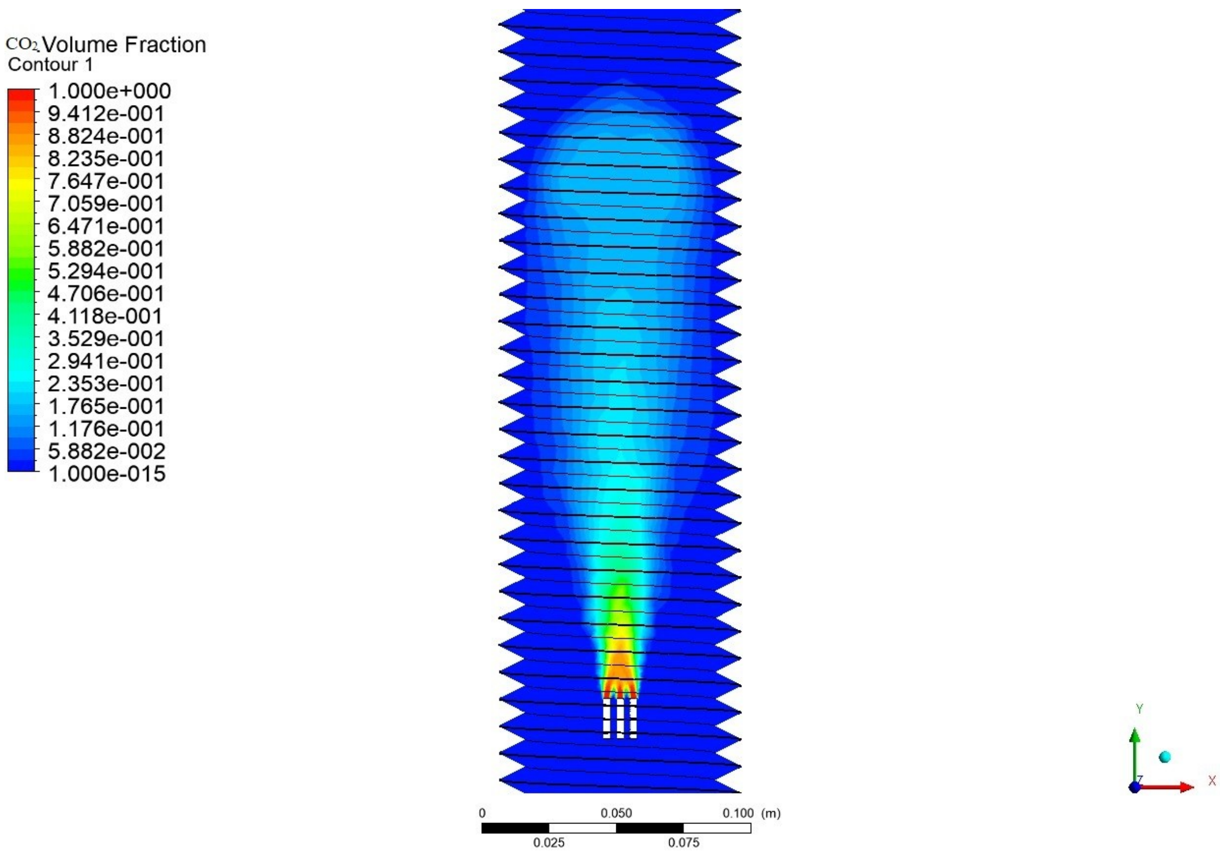


Рисунок 3.4.1.5 – Об’ємна частина CO_2 у об'ємі апарату. Збільшений масштаб

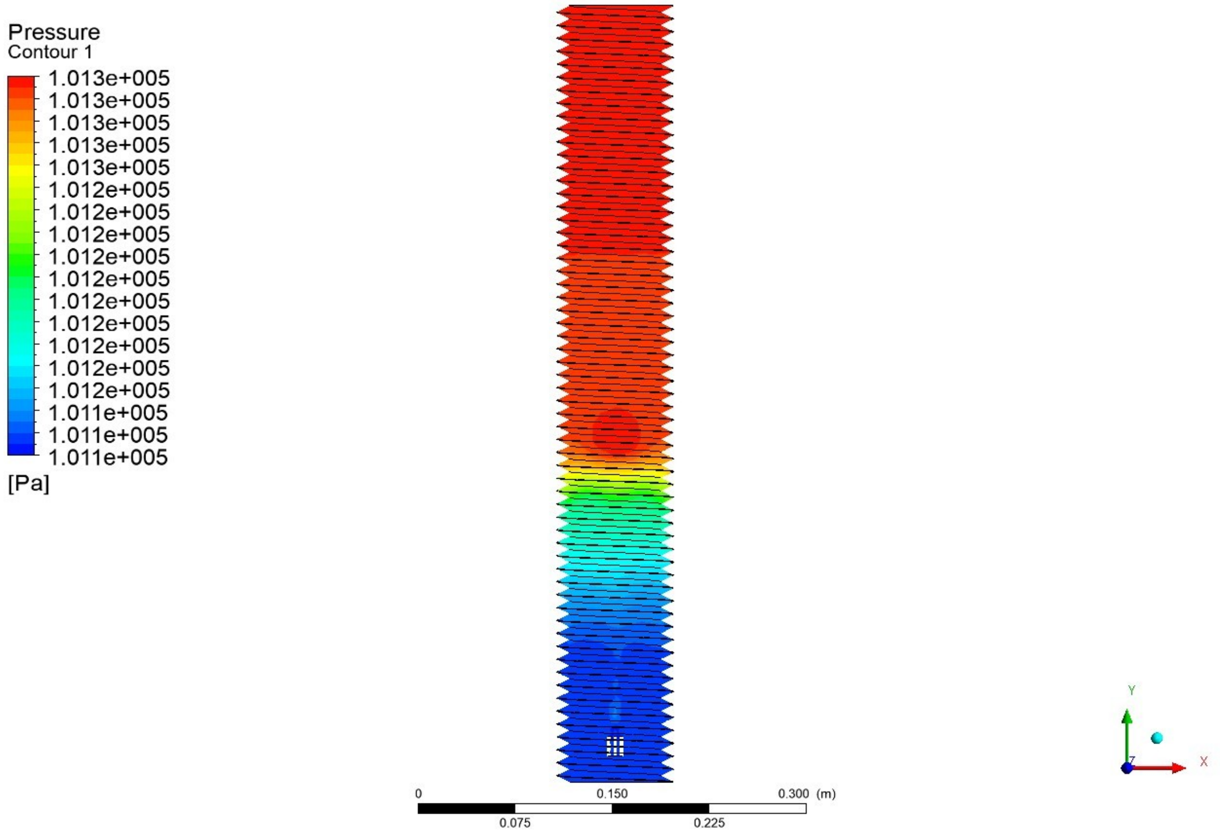


Рисунок 3.4.1.6 – Pressure. Тиск, який створює подача CO_2 у об'єм фотобіореактора

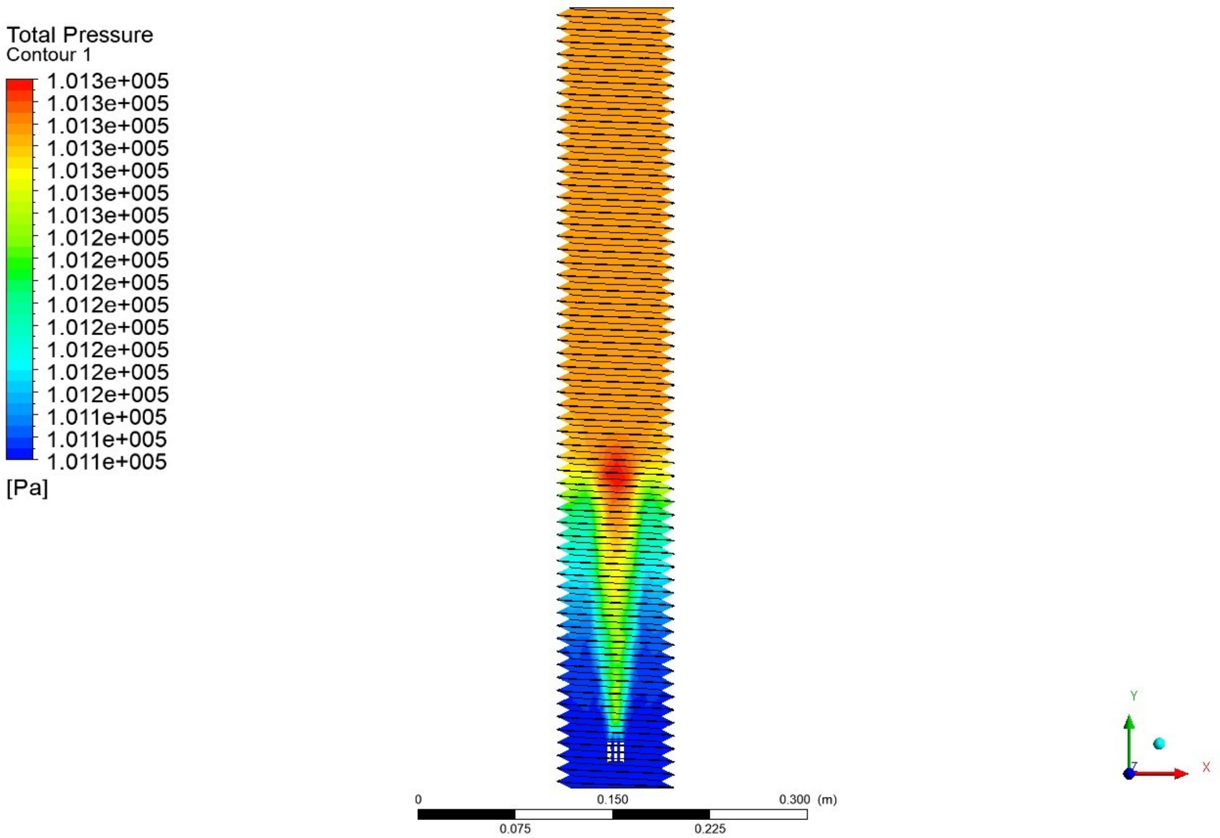


Рисунок 3.4.1.7 – Total Pressure. Тиск, який створює подача CO_2 у об'єм фотобіореактора

Дослід другий. Задана швидкість – 4 м/с. Час проведення експерименту 1 секунда.

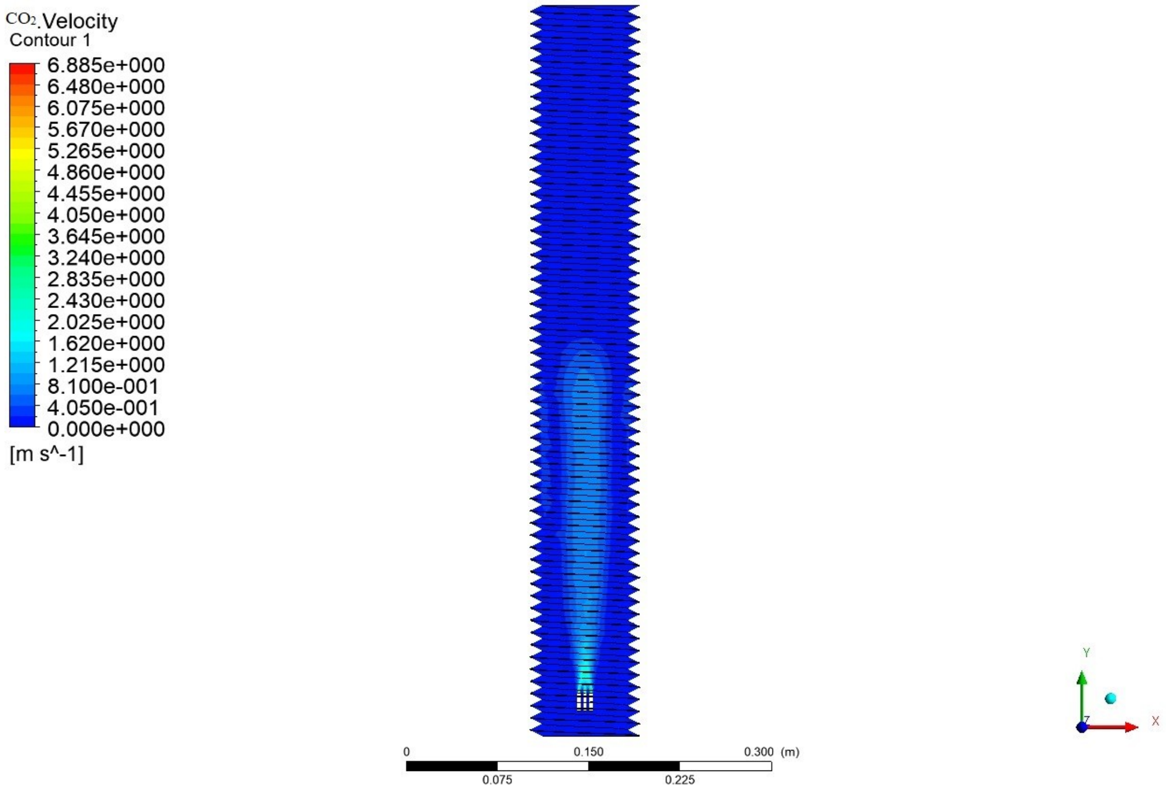


Рисунок 3.4.1.8 – Розподіл швидкостей CO_2 по об’єму апарата

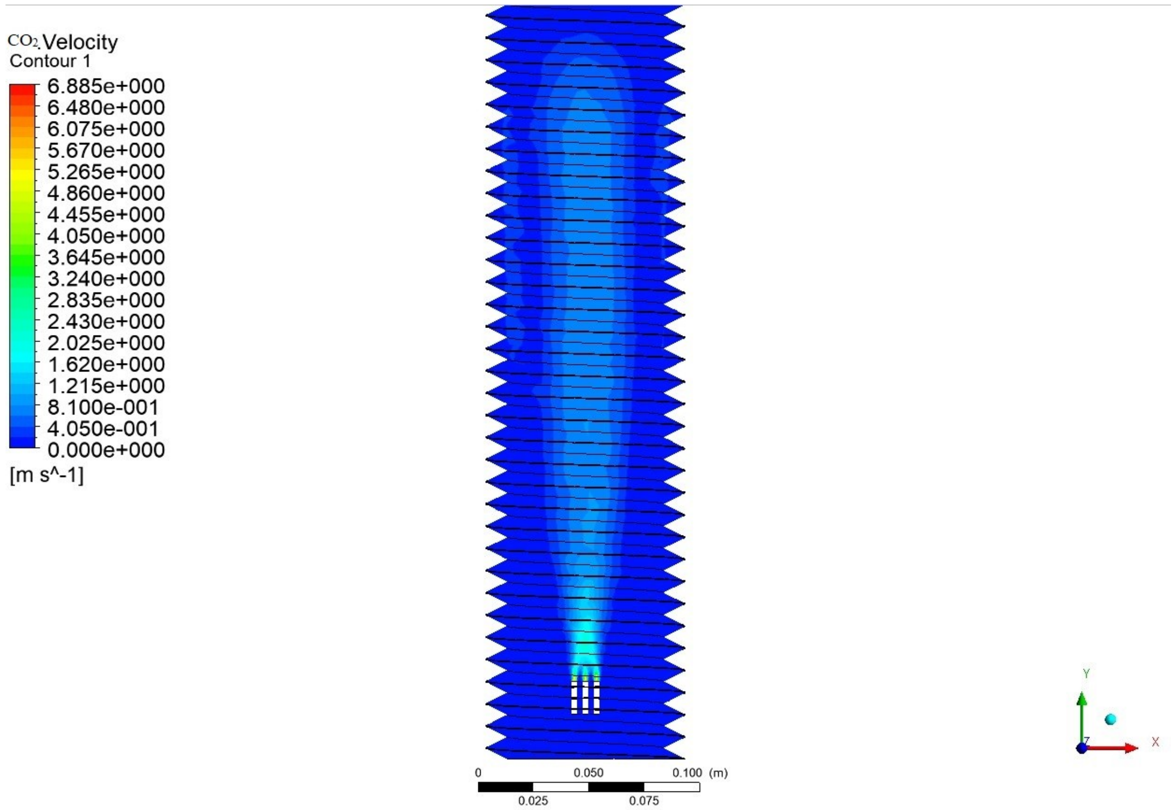


Рисунок 3.4.1.9 – Розподіл швидкостей CO_2 по об'єму апарата. Збільшений масштаб

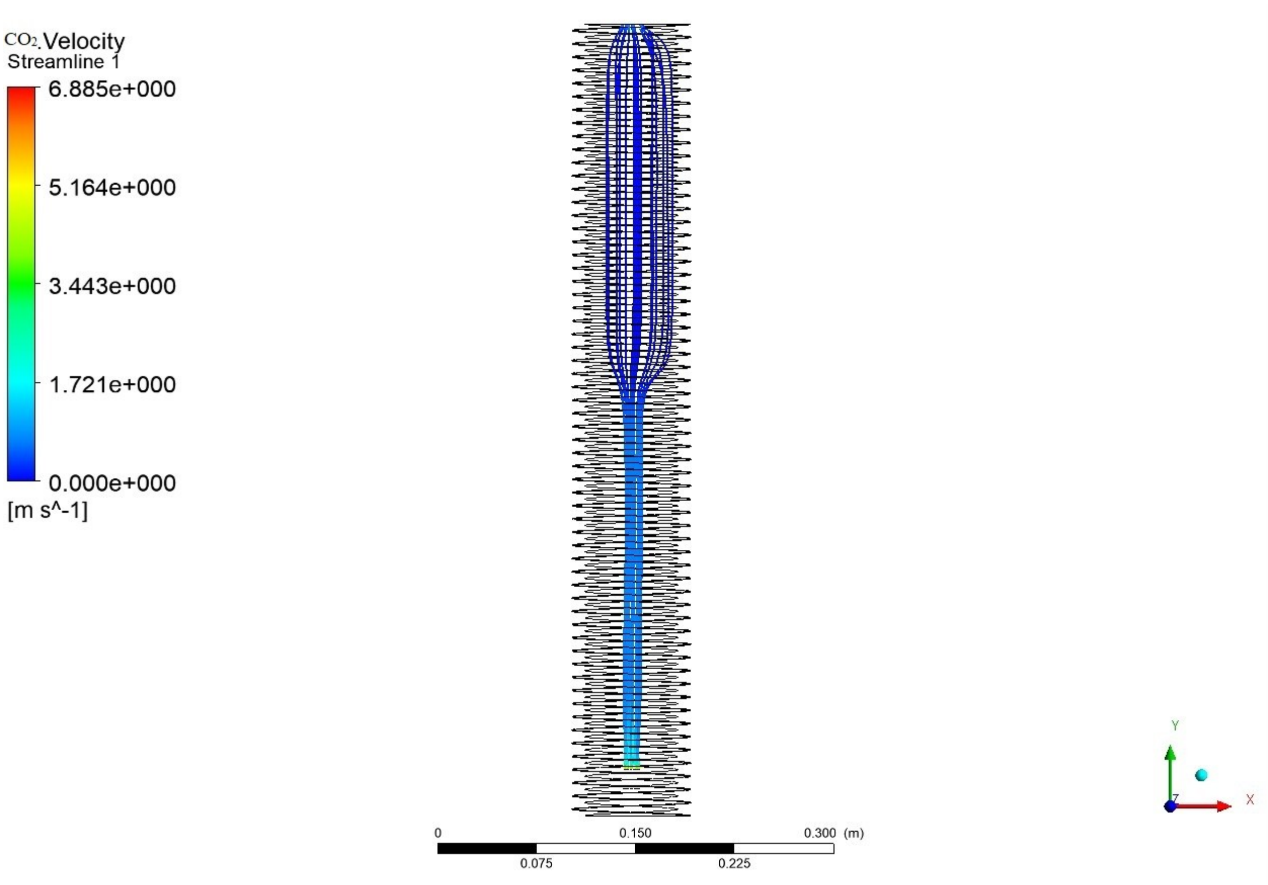


Рисунок 3.4.1.10 – Стрімлайни руху CO_2 у об'ємі апарату

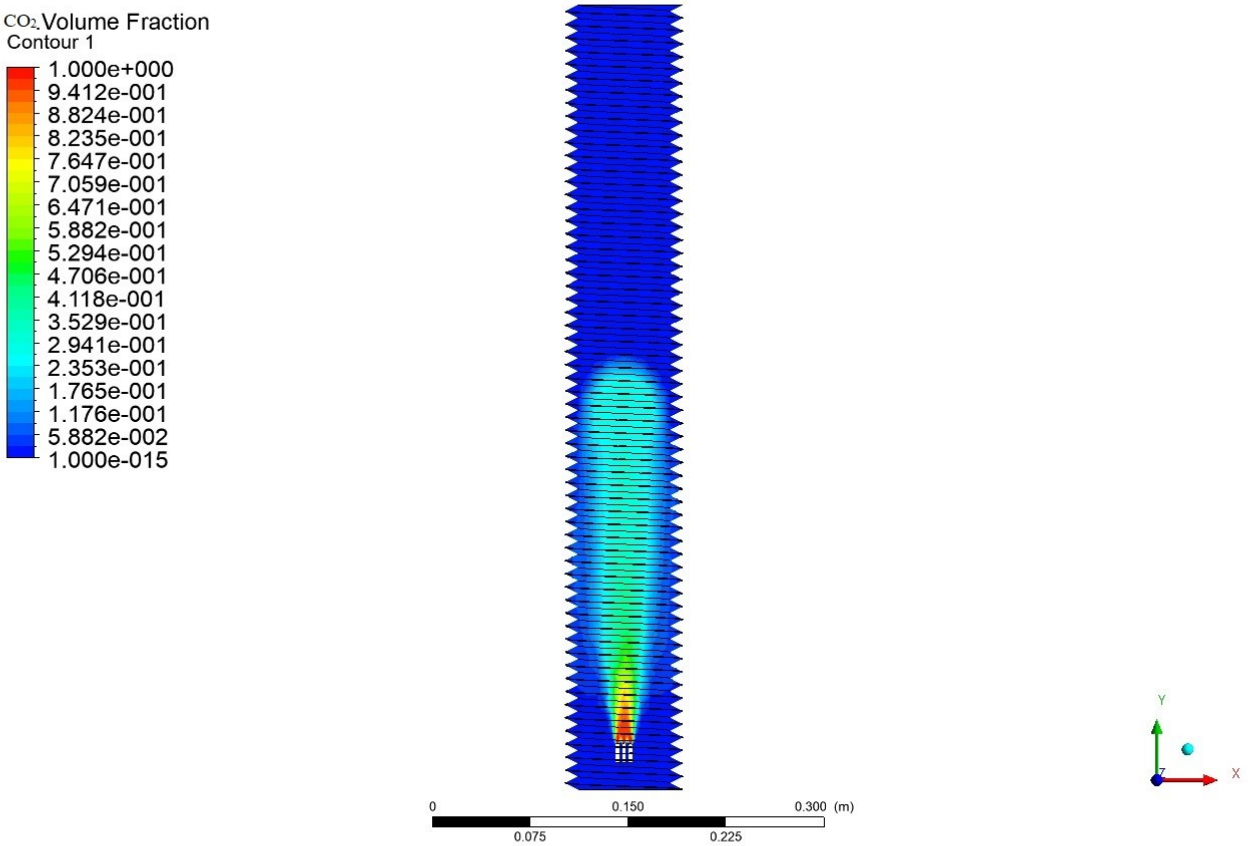


Рисунок 3.4.1.11 – Об’ємна частина CO_2 у об'ємі апарату

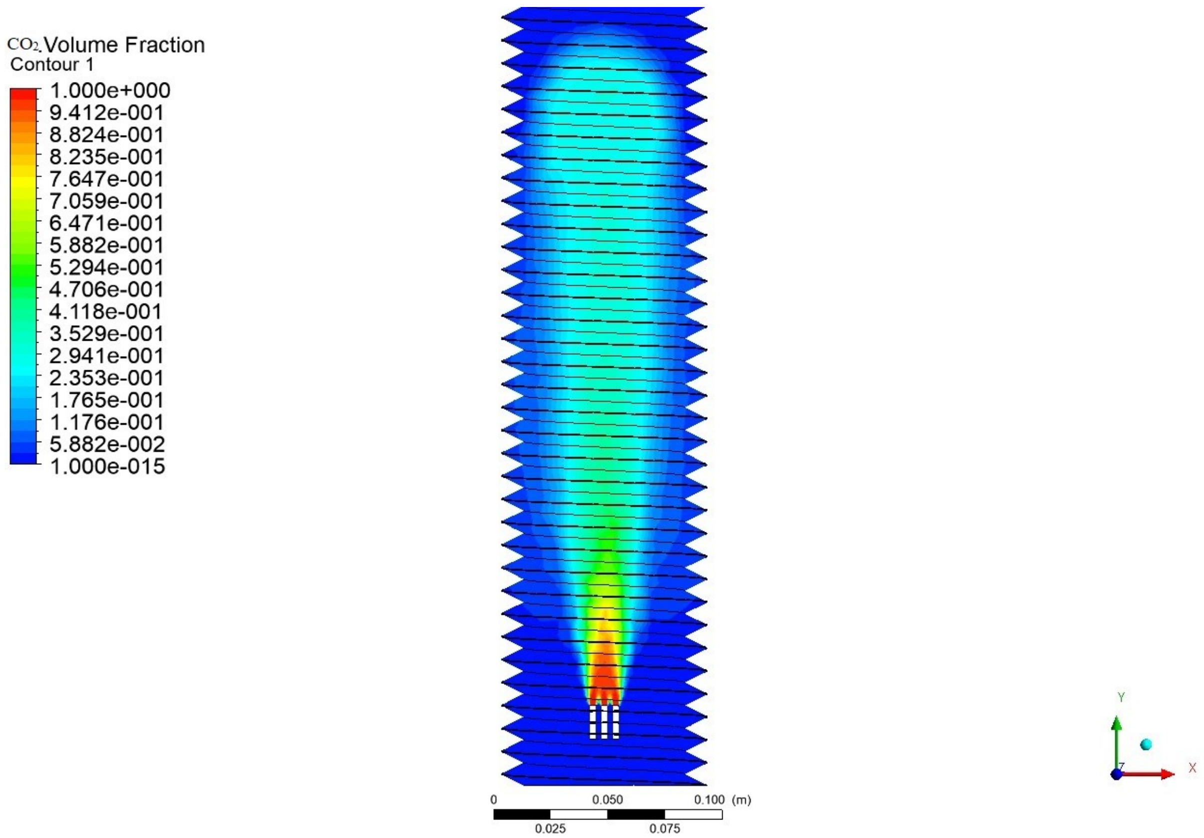


Рисунок 3.4.1.12 – Об’ємна частина CO_2 у об'ємі апарату. Збільшений масштаб

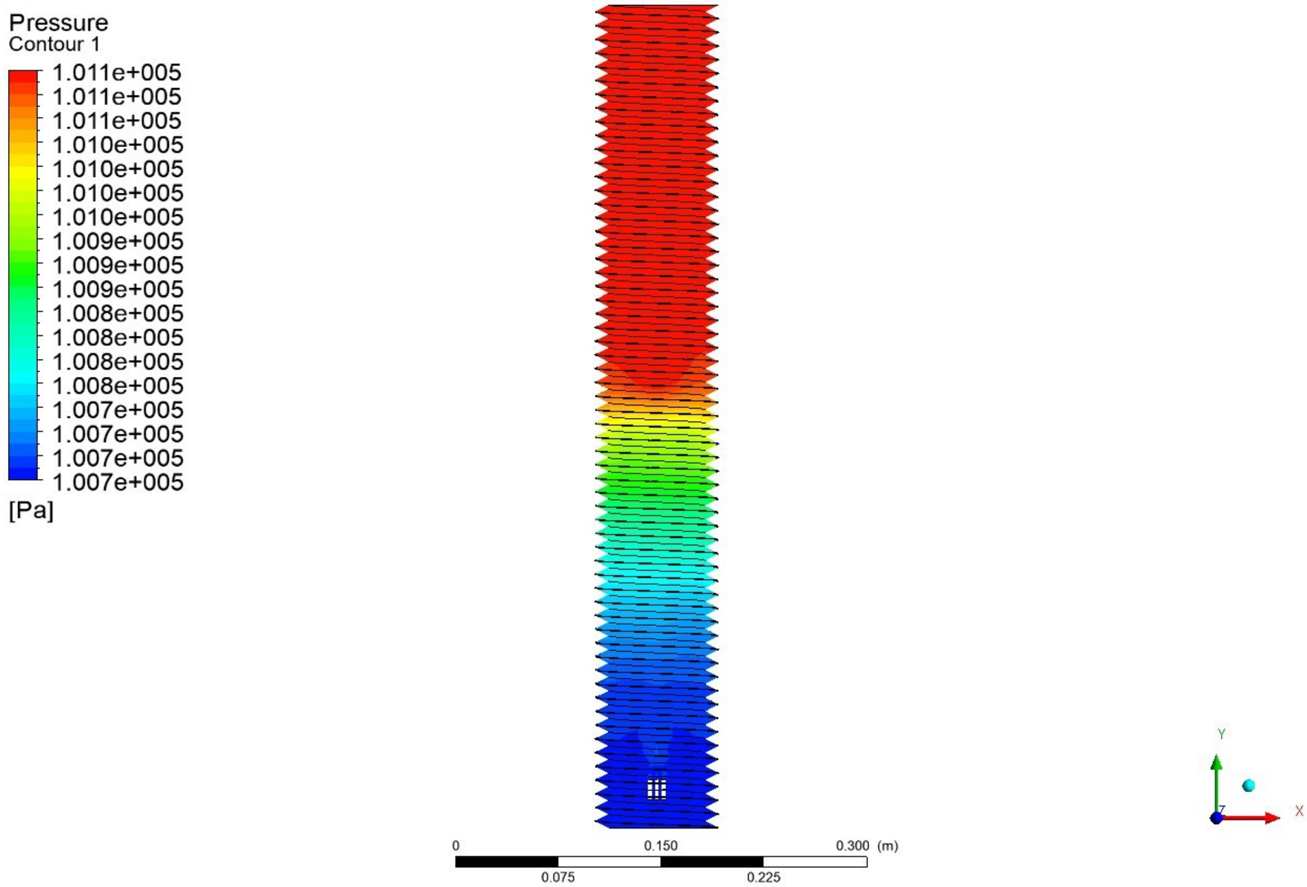


Рисунок 3.4.1.13 – Pressure. Тиск, який створює подача CO_2 у об'єм фотобіореактора

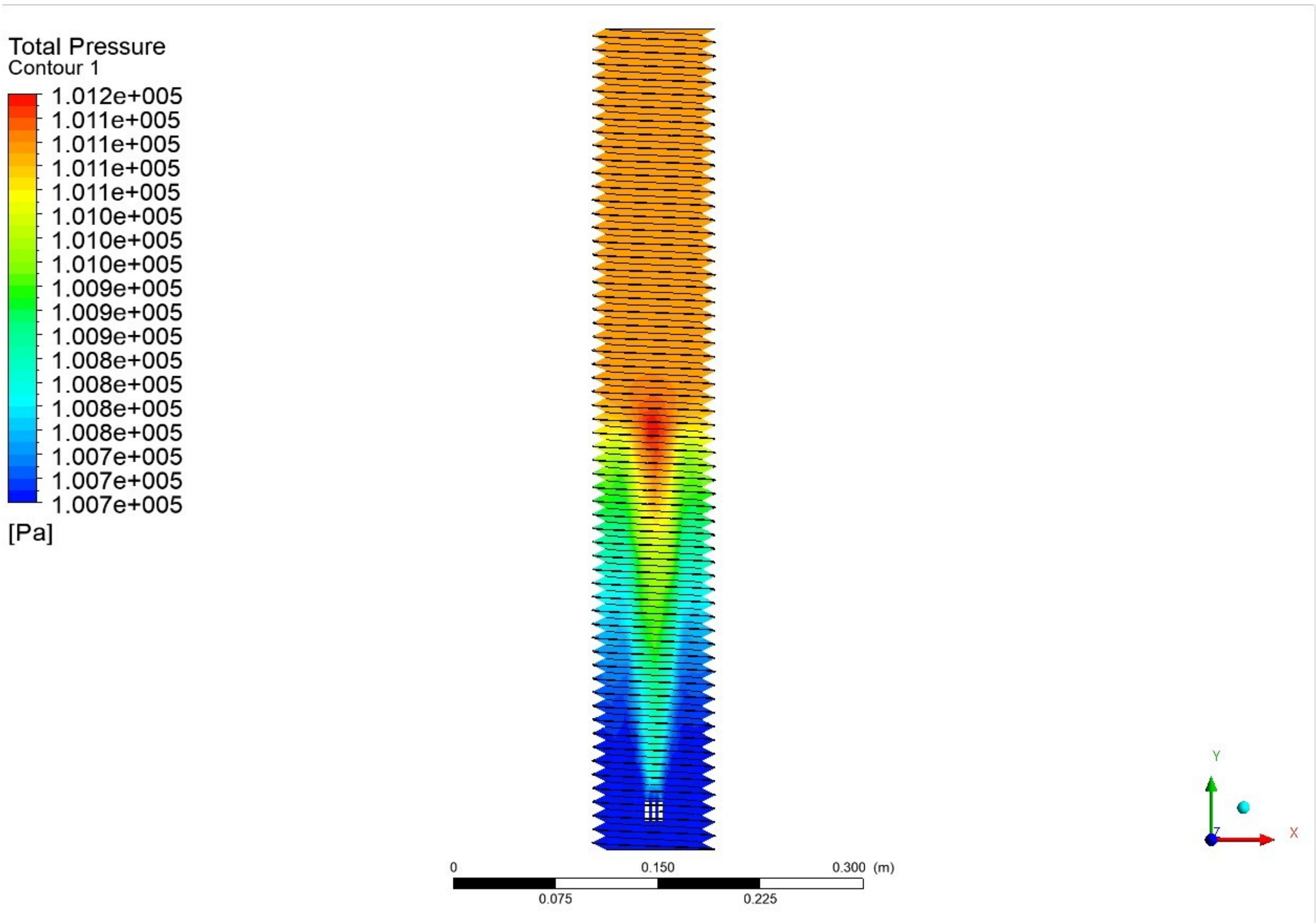


Рисунок 3.4.1.14 – Total Pressure. Тиск, який створює подача CO_2 у об'єм фотобіореактора

3.4.2 Навантаження корпусу апарата внутрішнім тиском

З попередніх розрахунків ми визначили тиск, який діє на корпус апарата. На рисунку 3.4.2.1 приведена схема розрахунку корпусу у модулі Static Structure.

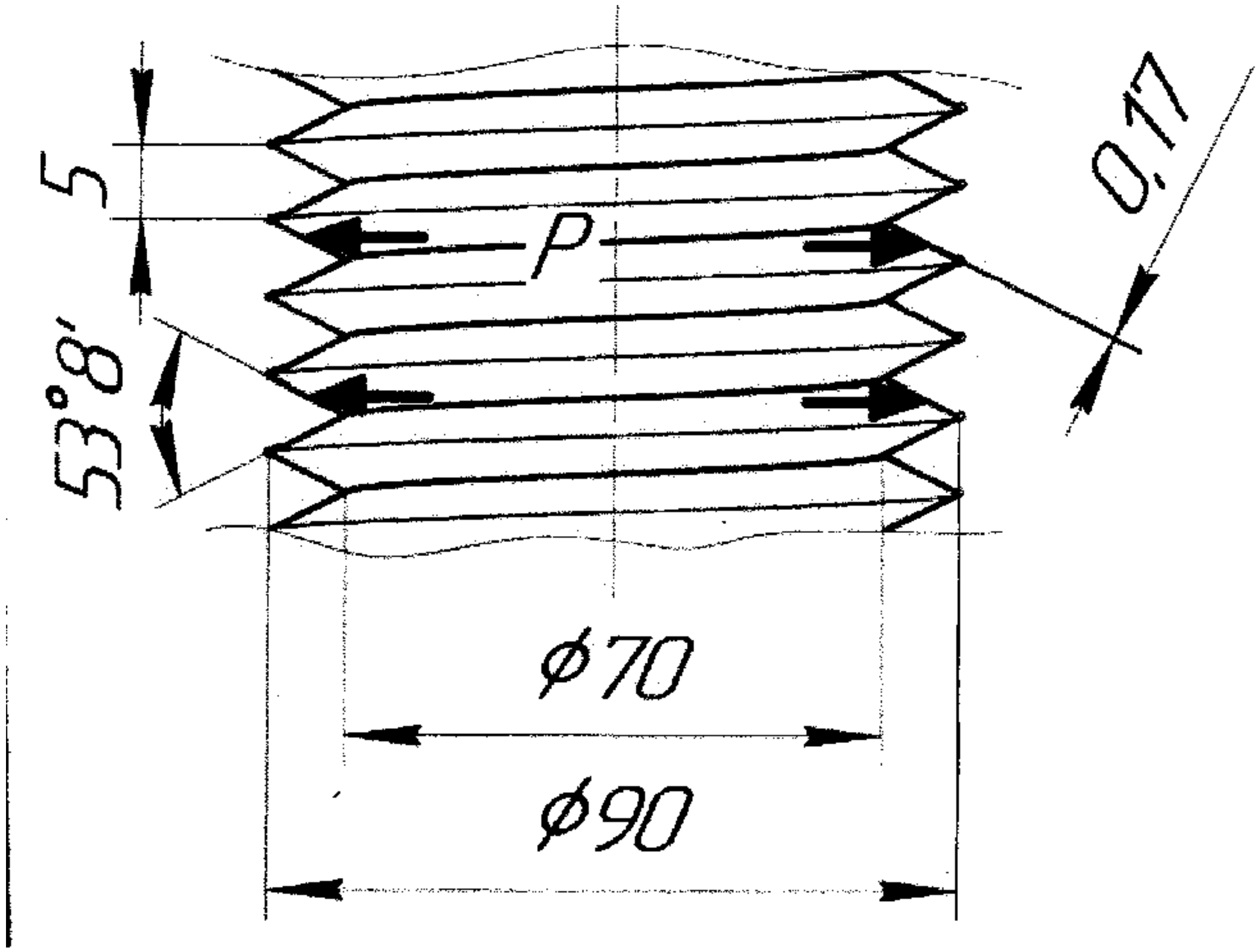


Рисунок 3.4.2.1 - Модель розрахунку корпусу лабораторного фотобіореактора у модулі Static Structure

Для початку необхідно задати налаштування сітки у розділі Setup модуля Static Structure (рис. 3.4.2.2, рис. 3.4.2.3). Для облегшення розрахунків була взята тільки частина корпусу апарата, але цього достатньо, щоб побачити загальну картину навантажень.

4 Математична модель

Розробка структури математичної моделі процесу культивування мікроводоростей хлорелла у порожнинному фотобіореакторі проводилась на основі експериментальних даних досліджень з [45]. Тривалість експериментів - 5 годин, початкові дані: біомаса - 2,5 г/л; концентрація CO_2 в газовій фазі - 5,5% об.; концентрація CO_2 в культуральній рідині - 0,24 г/л; концентрація кисню в культуральній рідині - 20% від насичення. В ході експериментів вимірювалися концентрації CO_2 у газовій фазі, O_2 в культуральній рідині і біомаса.

Основу структури моделі склала схема взаємозв'язку процесів масопереносу CO_2 і O_2 між газовою порожниною фотобіореактора і окремою клітиною з основними метаболічними процесами, що описують зростання окремої клітини. На схемі виділено три фази (Рис. 4.1).

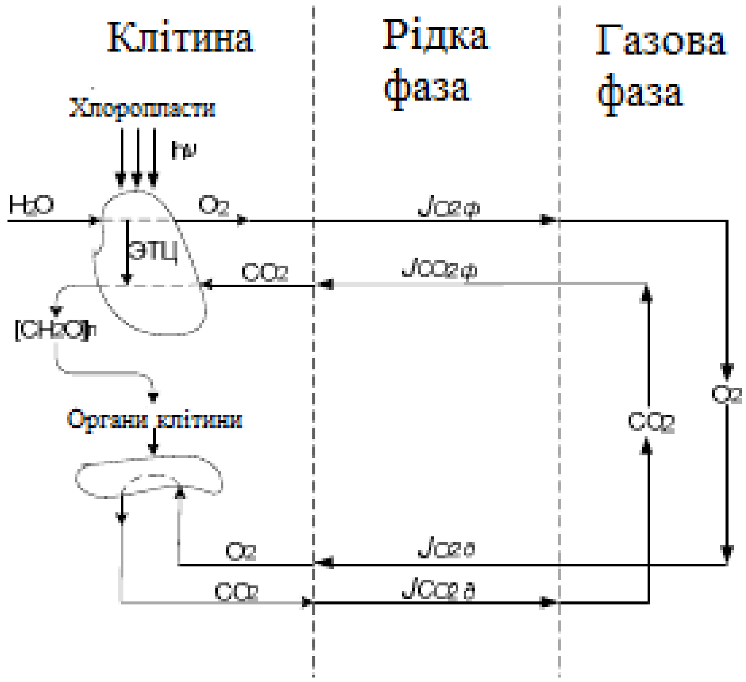


Рисунок 4.1 – Схема взаємозв’язку процесів масопереносу з метаболізмом окремої клітини: ЭТЦ – електрон-транспортний ланцюг хлоропластів; (CH_2O) – елементарна ланка вуглеводів; J – міжфазні потоки CO_2 та O_2 (індекс ∂ вказує на потоки зв’язані з диханням клітин, індекс ф – на потоки зв’язані з фотосинтезом).

1. Газова фаза (далі «Газ») - газова порожнина реактора, що складається з CO_2, O_2 та N_2. CO_2 є джерелом вуглецю та енергії для росту клітин і в той же час виділяється в процесі клітинного дихання. O_2, навпаки, виділяється у процесі фотосинтезу і поглинається при диханні. N_2 - нейтральний компонент, що становить основу газоповітряної суміші.

2. Рідка фаза (далі «Рідина») - культуральна рідина, в якій розвиваються клітини. Вона є проміжною ланкою, що здійснює масообмін CO_2 та O_2 між газовою порожниною фотобіореактора і окремою клітиною. Також фаза «Рідина» - це живильне середовище, що містить мінеральні речовини, що не враховуються в моделі.

3. Фаза «Клітина» представляє собою безпосередньо окрему клітину і слугує в моделі для опису основних метаболічних процесів, що відносяться або до фотосинтезу, або до біосинтезу. Виділення в моделі додаткової фази для клітинної стінки недоцільно, оскільки для транспорту низькомолекулярних речовин CO_2 та O_2 ферментативних процесів не потрібно. Також цей факт дозволяє припустити, що CO_2 та O_2 не накопичуються у клітині, поступаючи у неї по мірі необхідності (CO_2 для фотосинтезу і O_2 для дихання) і віддаляючись з неї разом з формуванням (CO_2 при диханні і O_2 при фотосинтезі) .

Процеси фотосинтезу, що протікають у фазі «Клітина», починаються з утворення реакційного центру за рахунок поглинання хлорофілом енергії світла (світлова стадія фотосинтезу):

$$n\text{Хл} + h\nu \xrightarrow{k_1} \text{Хл}^{*}, \qquad (1)$$

де Хл – хлорофіл; Хл* - реакційний центр фотохімічних реакцій. У всіх фотосинтезуючих клітинах первинні процеси фотосинтезу здійснюються за рахунок функціонування двох послідовних фотосистем. Оскільки при впливі

світла спочатку активуються пігменти реакційного центру фотосистеми II і саме за їх рахунок відбувається подальше розкладання води з утворенням кисню, при описі в моделі первинних процесів фотосинтезу фотосистему I розглядати недоцільно. Таким чином, *n* можна прийняти рівним 6, враховуючи, що для утворення реакційного центру фотосистеми II потрібно 6 молекул хлорофілу (разом з низкою інших молекул, які не розглядаються в моделі) [46].

Світлова стадія фотосинтезу також включає процеси, що протікають на реакційному центрі. Це перенесення електронів в електрон-транспортному ланцюгу від води, розкладається з утворенням кисню, до НАДФ і утворення АТФ (НАДФ і АТФ в моделі не розглядаються) [46]:

$$2\,H_2O + Хл^{\square} \rightarrow O_2 + 6\,Хл + 4\,H^{+ + 4\,e^-}$$

Далі йде темнова стадія фотосинтезу – засвоєння клітиною CO_2 (за участю утворених в ході світлової стадії НАДФ і АТФ) [47]:

$$CO_2 + 4\,H^{+ + 4\,e^- \rightarrow (CH_2O) + H_2O,}$$

де (CH_2O) – елементарна ланка вуглеводів (в роботах по моделюванню зростання мікроорганізмів для позначення подібних речовин часто використовується термін «інтермедіати» і символьне позначення – L [48]).

Склавши ці реакції, отримаємо узагальнене рівняння фотосинтезу:

$$CO_2 + H_2O + Хл^{\square} \underset{\rightarrow}{k_2} O_2 + L + 6\,Хл. \tag{2}$$

Процеси біосинтезу, що протікають у фазі «Клітина», розглядають ферментативний синтез макромолекулярних компонентів клітини з вуглеводів (інтермедіатів), отриманих в ході фотосинтезу, а також деполімеризацію

макромолекул.

Оскільки більшість метаболічних процесів протікає за участю різних ферментів (які стосуються в моделі до макромолекулярних компонентів клітини X), синтез макромолекул можна описати за допомогою автокаталітичної реакції, в якій інтермедіати стають ланками макромолекул:

$$X+\left(CH_2O\right)\rightarrow\left(1+\gamma\right)X. \qquad (3)$$

Тут γ - коефіцієнт, що дорівнює відношенню усереднених молекулярних мас компонентів L та X.

Крім цього інтермедіати частково перетворюються у CO_2 в дихальному ланцюзі за участю кисню і компонентів X:

$$X+\left(CH_2O\right)+O_2\rightarrow X+CO_2+H_2O. \qquad (4)$$

Якщо позначити за *u* частку інтермедіатів, що витрачаються клітиною на синтез макромолекул, від загальної маси інтермедіатів, одержуваних в процесі фотосинтезу, потім помножити реакцію (3) на *u*, реакцію (4) – на (1 - *u*) і скласти їх, то отримаємо сумарне рівняння біосинтезу, записане для одиниці L:

$$\left(1-\beta\right)X+L+\left(1-u\right)O_2\underset{\rightarrow}{k_3}\left[\left(1-\beta\right)+u\gamma\right]X+\left(1-u\right)\left[CO_2+H_2O\right]. \qquad (5)$$

Хлорофіл власне відноситься до макромолекулярних компонентів X. Тому він також повинен синтезуватися по реакції (5), не беручи при цьому участі у автокаталізі. Цей факт врахований в реакції (5) за допомогою коефіцієнта β – масової частки хлорофілу в X, яка дорівнює [49]:

$\beta=0{,}043.$

Деполімеризацію макромолекул можна розглядати як те, що відбувається без участі ферментів послідовне відщеплення полімерних ланок, знову стають інтермедіатами [48], і, отже, описати цей процес реакцією першого порядку:

$$\gamma X \underset{\rightarrow}{k_4} L. \tag{6}$$

Допущення про ненакопичення в клітині CO_2 та O_2 дозволяє не враховувати їх в матеріальному балансі клітини. Такий же підхід можна застосувати до води, яка бере участь в реакціях (2) і (5): оскільки клітини ростуть у живильному середовищі на водній основі, вода в клітині повинна бути в кількості, достатній для проходження всіх метаболічних процесів; тому концентрація води в моделі не розглядається. Вільний хлорофіл і, отже, реакційний центр фотосинтезу розглядаються в моделі як складова частина компонентів X. Таким чином, маса клітинної речовини в моделі складається з маси інтермедіатів і маси макромолекул, тобто матеріальний баланс клітини можна записати за допомогою рівняння:

$$C_L + C_X = 1, \tag{7}$$

де C_L та C_X – масові концентрації внутрішньоклітинних компонентів L та X, що мають розмірність *г компонента / г клітини*.

Отже, основні метаболічні процеси в окремій клітині описуються в моделі за допомогою чотирьох реакцій (1,2,5,6). У таблиці 4.1 наведено швидкості цих реакцій, а також умовні масові частки компонентів в реакціях. Так як реакція (1) відображає світлову стадію фотосинтезу, то при відсутності світла її швидкість повинна бути рівною 0. Так як в матеріальному балансі клітини (7) кисень не враховується, швидкість реакції (5) буде залежати від вмісту O_2 у середовищі (тобто у фазі «Рідина»); одиниця вимірювання вмісту
O_2 в фазі «Рідина» була обрана виходячи з наявних експериментальних даних – ступінь насичення. Вміст CO_2 в фазі «Рідина», від якого залежить швидкість реакції

(2), було домовлено виражати в тих же одиницях. При визначенні умовних масових часток компонентів в реакціях були прийняті наступні значення середніх молекулярних мас (в *г/моль*): інтермедіатів – 30, високомолекулярних компонентів X – 20 000, хлорофілу – 900.

Таблиця 4.1 – Характеристика реакцій у фазі «Клітина»

№	Швидкість	Умовні масові частки
1	$W_1=\begin{cases} k_1 C_{Хл}^{6}, h\nu \\ 0, h\nu=0 \end{cases}$	$\gamma_{1\,Хл}=\gamma_{1\,Хл^{\square}}=1$
2	$W_2=k_2 C_{Хл}\cdot p_{CO_2}$	$\gamma_{2\,CO_2}=0{,}0081, \gamma_{2\,Хл}=\gamma_{2\,Хл^{\square}}=0{,}9886,$ $\gamma_{2\,O_2}=0{,}0059, \gamma_{2\,L}=0{,}0055$
3	$W_3=k_3(1-\beta)C_X C_L\cdot p_{O_2}^{1-u}$	$\gamma_{3\,L}=\frac{30}{62-32u}, \gamma_{3\,O_2}=\frac{32-32u}{62-32u},$ $\gamma_{3\,CO_2}=\frac{44-44u}{62-32u}, \gamma_{3\,X}=\frac{30u}{62-32u}$
4	$W_4=k_4 C_X$	$\gamma_{4\,X}=\gamma_{4\,L}=1$

Математичний опис фази «Клітина» було отримано на основі складання матеріальних балансів по кожному внутрішньоклітинному компоненту. Нижче наведені рівняння, що описують зміни масових концентрацій внутрішньоклітинних компонентів:

$$\frac{dC_L}{dt}=\gamma_{2L}W_2-\gamma_{3L}W_3+W_4-C_L\mu,\tag{8}$$

$$\frac{dC_X}{dt}=\gamma_{3X}W_3-W_4-C_X\mu,\tag{9}$$

$$\frac{dC_{Хл}}{dt}=-W_1+\gamma_{2\,Хл}W_2+\beta\gamma_{3X}W_3-\beta W_4-C_{Хл}\mu,\tag{10}$$

$$\frac{dC_{Хл^{\square}}}{dt}=W_1-\gamma_{Хл^{\square}}W_2-C_{Хл^{\square}}\mu.\tag{11}$$

Третій і четвертий члени у рівнянні (10) враховують синтез і деполімеризацію хлорофілу (як компонента X) в реакціях (5) і (6), відповідно.

Рівняння зміни біомаси (тобто, маси фази «Клітина») можна представити у вигляді:

$$\frac{dz}{dt} = z\mu. \quad (12)$$

Питома швидкість росту біомаси визначається згідно матеріального балансу фази «Клітина» за формулою:

$$\mu = \gamma_{2L} W_2 + (\gamma_{3X} - \gamma_{3L}) W_3. \quad (13)$$

Матеріальні баланси CO_2 та O_2 в фазах «Рідина» і «Газ»:

$$\frac{d\,p_{CO_2}}{dt} = \frac{1}{c^0_{CO_2}} \left(J^{г-р}_{CO_2} - J^{р-кл}_{CO_2} \right), \frac{d\,v_{CO_2}}{dt} = \frac{-J^{г-р}_{CO_2}}{\alpha\,\rho^0_{CO_2}} + \varphi_{CO_2}, \quad (14)$$

$$\frac{d\,p_{O_2}}{dt} = \frac{1}{c^0_{O_2}} \left(-J^{р-г}_{O_2} + J^{кл-р}_{O_2} \right), \frac{d\,v_{O_2}}{dt} = \frac{J^{р-г}_{O_2}}{\alpha\,\rho^0_{O_2}} - \varphi_{O_2}. \quad (15)$$

Тут p - ступінь насичення газу (CO_2 або O_2) у фазі «Рідина»; v - об'ємна частка газу в фазі «Газ»; ρ^0 - щільність, г/л; c^0 - розчинність у воді, г/л; α - об'ємна частка фази «Газ» в сумарному робочому об’ємі фотобіореактора; φ - функції, що задають режим продувки фотобіореактора.

Враховуючи допущення про ненакопичення у клітині CO_2 і O_2, сумарні потоки CO_2 та O_2 між фазами «Рідина» і «Клітина» можна виразити через швидкості реакцій (2) і (5):

$$J^{р-кл}_{CO_2} = z \left(\gamma_{2CO_2} W_2 - \gamma_{3CO_2} W_3 \right), \quad (16)$$

$$J^{кл-р}_{O_2} = z \left(\gamma_{2O_2} W_2 - \gamma_{3O_2} W_3 \right), \quad (17)$$

З рівнянь (14), (15) видно, що сумарний потік CO_2 направлений з фази «Рідина» у фазу «Клітина», а сумарний потік O_2, навпаки, - з фази «Клітина» у фазу «Рідина»; саме так і відбувається при наявності світла і функціонуванні фотосинтезу. При відсутності світла утворення реакційних центрів фотосинтезу припиняється відповідно до реакції (1), тому швидкість реакції (2) стане рівною нулю і потоки (16), (17) стануть негативними, тобто спрямованими у протилежну сторону, що відповідає процесу дихання клітин не у фототрофному режимі.

Висновок: була побудована математична модель, що описує процес переносу газової фази на границі поділу рідина-клітина. Дана модель дає можливість підібрати оптимальні параметри культивування клітин з визначенням витрати CO_2 та відведення O_2.

5 Розробка стартап проекту

5.1 Резюме

Бізнес-ідея.

Впровадження лінії виробництва цефазоліну натрієвої солі (Cefazolinum) шляхом використання нового продуцента: *Acremonium chrysogenum BKMF-4081 D*. Дана технологія призначення для впровадження на фармацевтичних заводах України.

Техніко-економічні показники.

Продуктивність: 193 кг.

Час виробництва однієї серії: 7 діб (168 годин).

Плановий випуск продукції за перші 5 років: 50 962 кг.

Вартість розробки – 2,5 млн. грн.

Період повернення капіталовкладень – 2 роки.

Загальна характеристика розробки.

Тема: Оптимізація виробництва антибіотика цефалоспоринового ряду – цефазоліну натрієвої солі.

Назва: Використання мікроміцета *Acremonium chrysogenum BKMF-4081 D* у виробництві цефазоліну натрієвої солі.

Суб'єкт замовлення: підприємства фармацевтичної галузі.

Об'єкт дослідження: мікроміцет *Acremonium chrysogenum BKMF-4081 D.*

Місце в інноваційному ланцюгу цінностей: виробництво (операції).

Плановий обсяг випуску продукції за роками:

1 рік: 9 262 кг цефізоліну натрієвої солі, розфасованого у флакони по 1 г (48 робочих тижнів * 193 кг).

2 рік: 9650 кг (50 тижнів*193 кг).

3 рік: 9650 кг (50 тижнів*193 кг).

4 рік: 11 200 (50 тижнів*224 кг).

5 рік: 11 200 (50 тижнів*224 кг).

Мета розробки.

Метою розробки є впровадження у виробництво антибіотика цефазоліну натрієвої солі нового штама-продуцента – мікроміцета *Acremonium chrysogenum BKMF-4081 D*. Використання даного продуценту є новим для даного виробництва. Штам *Acremonium chrysogenum BKMF-4081 D* є в середньому на 20% продуктивнішим за попередньо використовувані штами. Це дає можливість значно підвищити продуктивність виробництва в цілому. Як наслідок – можливість задовольнити потреби фармацевтичного ринку України вітчизняним продуктом.

Продукт: стерильний порошок цефазоліну натрієвої солі (98%) у скляних флаконах по 1 г з резиновою пробкою.

Однією з основних переваг є те, що ідея може впроваджуватися на фармацевтичних заводах України. Тобто дана бізнес-ідея має застосовуватися як покращення існуючого стандартного методу виробництва цефазоліну натрієвої солі. Ідея не потребує побудови окремого виробництва для втілення, тобто не тягне за собою великих матеріальних затрат.

Технологія включає в себе повну лінію виробництва антибіотика цефазоліну натрієвої солі. Дане виробництво на основі штама *Acremonium chrysogenum BKMF-4081 D* вимагає встановлення повітряних теблообмініків, що повинні забезпечувати постійну температуру повітря в межах 50-55 °С, що надходить у барботер виробничого ферментера та інокулятора. Решта обладнання є стандартним для виробництва цього антибіотика.

Перевагою є те, що забезпечення виробництва достатньою сировинною базою не потребує складного техологічного обладнання та особливих умов. Саме тому використання штаму *Acremonium chrysogenum BKMF-4081 D* може легко бути впроваджене в стандартну лінію виробництва цефазоліну натрієвої солі.

Оскільки ідея впроваджується як покращення у виробництво, то буде досить існуючого персоналу на фармацевтичному підприємстві. Не потрібно буде залучати нових кваліфікаційних працівників, а досить буде провести додатковий курс навчального інструктажу існуючим робітникам.

Ринок збуту: українські фармацевтичні підприємства. Ідея розрахована на повне забезпечення потреб фармацевтичного ринку України в даному препараті та витіснення закордонних аналогів. Є можливість розширення у найближчі 5 років – експорт у країни СНД.

5.2 Аналіз зовнішнього та внутрішнього середовища підприємства

Таблиця 5.2.1 – Загрози й можливості зовнішнього середовища

Загрози	Можливості
1	2
Політика	
Препарат відповідає АНД № 418 від 08.07.2015. Також якість контролюється статтями з ДФУ. Нестабільна політична ситуація, пов’язана зі змінами у податковій системі і законодавстві в цілому.	Продукція, виготовлена за нормативними документами викликає довіру у споживачів, якість не піддається сумніву. Регулярно впроваджуються нові нормативні документи та удосконалюються існуючі.
Економіка	
Постійне дорожчання обладнання, деталей обладнання, ремонту, допоміжних матеріалів.	Легкість впровадження ідеї в існуючі виробництва з мінімальними економічними затратами.
Географія	
Конкуренти аналогічно можуть виростити сировину (штам *Acremonium chrysogenum BKMF-4081 D*) в лабораторних умовах.	Сировина не прив’язана до географічного положення, оскільки для її отримання досить умов, створених в лабораторії. Можливість експорту продукції.
Демографія	
	Споживачами продукту є вікова група населення з 18 років, що складає більше 80% всього населення України.

Культура	
Лікування гомеопатичними препаратами має свою силу, що сприяє зменшенню використання традиційних антибіотичних препаратів (зокрема, цефазоліну натрієвої солі).	Сучасна медицина має значні потреби в антибіотиках цефалоспоринового ряду (зокрема, цефазоліну натірєвої солі), оскільки до антибіотиків пеніцилінового ряду з'являється все більше резистентних мікроорганізмів. Тому, відповідно, і довіра населення росте у напрямку використання антибіотиків цефалоспоринового ряду.
Науково-технічний прогрес	
Наука рухається в напрямку створення нових препаратів, які мають природну основу (наприклад, рослинну), які впливають на організм без побічних ефектів.	Створення більше високоефективного обладнання, яке забезпечує вищу якість, швидкість виготовлення та економічність придбання.

Таблиця 5.2.2 – Переваги і недоліки внутрішнього середовища

Переваги	Недоліки
1	2
Фактори – Постачальник, Виробник	
Для забезпечення технології обладнанням не потрібно індивідуальних розробок. Обладнання стандартне, всі елементи легко піддаються заміні. Забезпечити технологію сировинною базою легко, так як достатньо умов, створених в лабораторії. Для вирощення даного штаму, який виступає у якості продуцента сировини, достатньо додати у певних співвідношеннях джерела мінеральних солей, фосфати, кукурудзяний екстракт, глюкозу (всі елементи легкодоступні і дешеві). Технологія не потребує залучення нового персоналу. Оскільки, ідея впроваджується як покращення існуючого виробництва, то досить буде провести навчальний інструктаж існуючих працівників, що не тягне за собою економічних затрат. Технологія має чітко регламентовані аспекти контролю.	Обладнання дорого вартісне, потрібно закуповувати закордоном, оскільки, вітчизняних аналогів немає. Потрібні вкладення 950 000 грн. В цілому процес складний і потребує асептичних умов виробництва. Вимагає високого ступеня контролю заради уникнення контамінації. Обов'язкова сертифікація сировини згідно ДФУ, АНД та МКЯ. (Потребує 125 000 грн.) Навчання персоналу потребує капіталовкладень у розмірі 50 000 грн. Витрати на тару, пакувальні матеріали – 500 000 грн./рік (2,6 грн./од.). Витрати на допоміжний інвентар – 75 000 грн./рік. Продукт потребує витрат на рекламу у розмірі 550 000 грн/рік.
Фактор - Споживач	
Оскільки результатом впровадження даної ідеї є препарат вітчизняного	Важкість виходу на ринок у зв'язку з міцними позиціями

виробництва, то він буде значно дешевший за імпортні аналоги. 84 грн. за уп. 1 г №10 (тоді як аналоги представлені в ціновівй категорії 104 – 147 грн. за уп.). У подальшому є можливість експорту продукції.	імпортних аналогів. Погана проінформованість споживачів. Потреба у рекламі продукту.
Фактор - Посередники	
Можливість покладення на посередників транспортування продукції. Дозвіл на закупівлю препарату у великих кількостях за нижчою ціною, в обмін на зобов'язання з боку посередника поширювати продукцію (як наслідок, менші витрати на рекламу).	Збільшення вартості готової продукції.
Фактор - Конкуренти	
Усі препарати-аналоги є дорожчими за запропонований продукт. Можливість впроваджувати дану технологію на всіх фармацевтичних заводах України як покращення існуючої технології. Тобто, сама ідея виключає наявність вітчизняних конкурентів.	Усі аналоги є імпортного виробництва, що може вселяти більшу довіру споживачеві. Витрати на рекламу.

Аналіз потенційного ринку збуту і конкурентного середовища за методом квадрату Бове

Потенційним ринком збуту є український ринок фармацевтичних препаратів.

Український ринок антибіотиків цефалоспоринового ряду представлений 107 препаратами. З них на вітчизняного виробника припадає лише 5 % долі в товарному асортименті. Виробництво антибіотиків цефалоспоринового ряду I (сюди якраз і належать препарати на основі цефазоліну) покоління представлено 28 країнами. Лідером з них є Індія. Крім того, ця країна представляє одні з найдешевших препаратів.

В цілому аналіз ринку цефалоспоринових антибіотиків показує, що вітчизняною промисловістю випускається лише чотири найменування (серед яких є і цефазолін), а їх доля сягає лише 5%.

Запропонована бізнес-ідея дозволяє розширити долю вітчизняних препаратів за рахунок монополізації сегмента виробництва препаратів на основі цефазоліну.

Кокретними конкурентами в цьому сегменті виступають виробник Lupin (Індія) та Biochemie (Австрія). Препарату австрійського виробництва належить середня цінова категорія. Індійський цефазолін вийшов на ринок у 2005 в заниженій ціновій категорії й досі тримає провідні позиції в цьому напрямку.

Вітчизняними виробниками є КМП (КиївМедПрепарат), Борщагівський ХФЗ, Дарниця та Фармак. Ці фірми представляють препарати у заниженій ціновій категорії.

КВАДРАТ БОВЕ

Таблиця 5.2.3 – Квадрат Бове

ОАО «Київмедпрепарат»	Lupin (Індія)
Biochemie (Австрія)	ЗАО «Дарниця», БХФЗ, ПАО «Фармак»

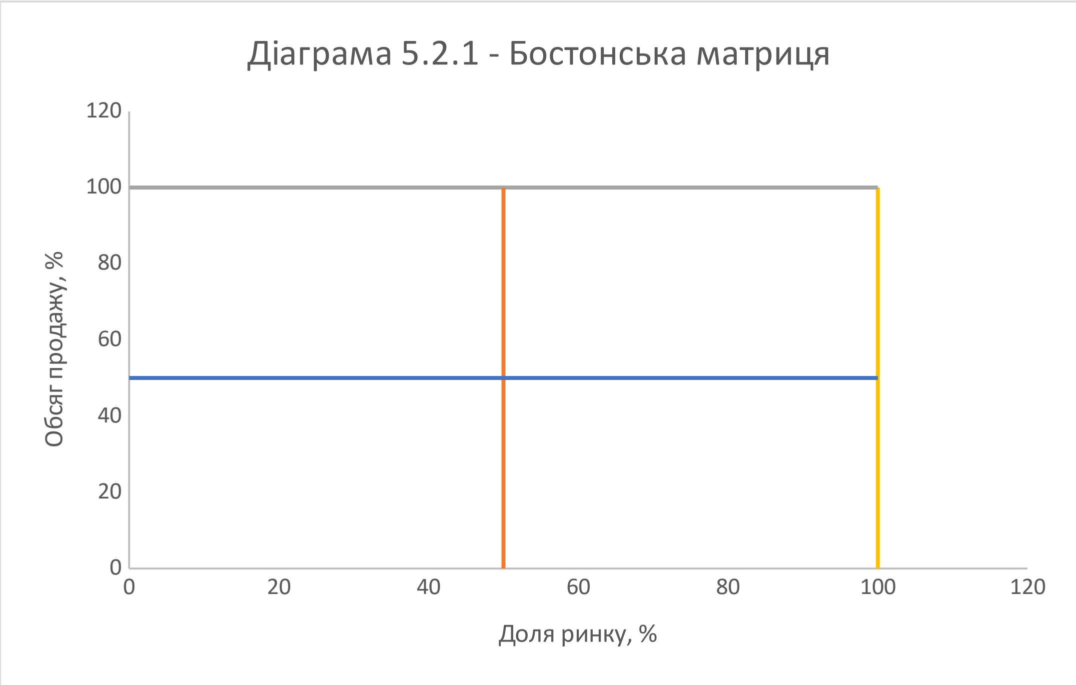
В даному сегменті ринка цефалоспоринових антибіотиків першого покоління лідерами є ОАО КМП. Вони представляють найбільший асортимент продукції (мається на увазі форма випуску та дозування) та випускають препарати в дещо заниженій ціновій категорії.

Наступає індійський виробник Lupin, який займає друге місце в цьому сегменті. Виробник давно на ринку й тримає міцні позиції. Представляє продукт у заниженій ціновій категорії, але ціна в цілому є дещо вища, ніж у ОАО КМП.

Третє місце припадає на австрійського виробника Biochemie, який має міцні позиції на ринку, незважаючи на те, що працює в середній ціновій категорії.

Решта цього сегмента припадає на такі виробники як ЗАО «Дарниця», БХФЗ та ПАО «Фармак».

Місце розробки у системі цінностей підприємства за методом Бостонської матриці



З матрицею БКГ до «зірок» можна віднести індійського виробника Lupin, який хоч і має дещо нижчі обсяги виробництва, ніж ОАО КМП, але представляє препарати з дещо вищою ціною.

До «важких дітей» однозначно можна віднести австрійського виробника Biochemie. Хоча вони представляють продукцію у середній ціновій категорії, але порівняно з рештою виробників, вона є найвищою. Недоліком у їхньому випадку є невисокий обсяг продажу.

Місце «дійних корів» належить ОАО КМП, так як вони мають найбільший % випуску продукції, але за найнижчою ціною.

В якості «собак, яких гонять» виступає решта українських виробників (ЗАО «Дарниця», БХФЗ та ПАО «Фармак»). Вони мають незакріплені позиції на ринку, і незначний % випуску. Позиція ПАО «Фармак» у цьому сегменті взагалі нестабільна.

5.3 Ключові фактори успіху

Таблиця 5.3.1 – Метод Шонфільда для

визначення ключових факторів успіху проекту

№	Характе-ристики	Вагомість хар-ки	Бізнес-ідея впровадження виробництва на основі нового продуцента	Цефазоліну натрієва сіль – порошок стерильний для ін’єкцій 0,5; 1,0 г № 10 «Lupin»	Цефазоліну натрієва сіль – порошок стерильний для ін’єкцій 0,5; 1,0 г № 10 «Biochemie»
1	Ціна	0,15	5	5	3
2	Ступінь чистоти	0,15	5	4	5
3	Ефективність	0,3	4	4	5
4	Відповідність НТД	0,3	5	5	5
5	Побічний ефект	0,1	4	4	5

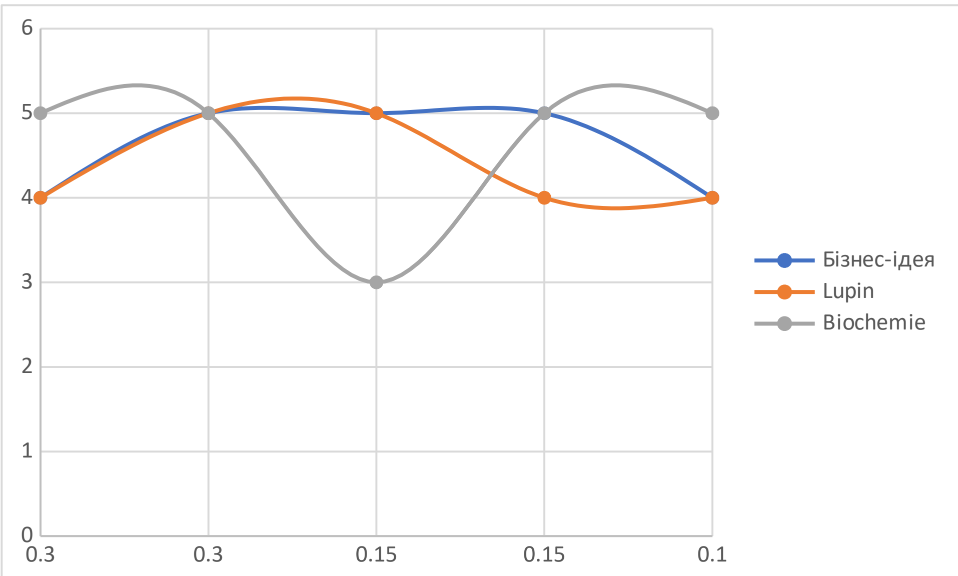


Рисунок 5.3.1 – Аналіз ключових факторів успіху

5.4 Оцінка ринкових позицій інноваційної розробки

Анкета споживача

1. Вкажіть Ваш вік:

А. до 18; Б. 18-35; В. 35-50; Г. більше 50.

2. Вкажіть Вашу стать:

А. чоловіча; Б. жіноча.

3. Скільки на Вашу думку має коштувати антибіотичний препарат такої фармакологічної дії:

А. 1 – 50 грн.; Б. 50 – 100 грн.; В. більше 100 грн.

4. Чи підтримуєте Ви вітчизняного виробника:

А. так; Б. ні.

5. Чи лікувалися Ви антибіотичними препаратами такої ж фармакологічної дії вітчизняного виробництва:

А. так; Б. важко згадати; В. ні.

6. Як ви оцінюєте ефективність вітчизняного препарату такої фармакологічної дії (у випадку відповіді А на 5 запитання):

А. низькоефективний; Б. малоефективний; В. високоефективний.

7. Який критерій при виборі препарату такої дії є для Вас найважливішим?

А. ціна; Б. ефективність; В. відповідність вимогам НТД; Г. побічні ефекти.

8. Який критерій при виборі препарату такої дії є для Вас найменш важливим?

А. ціна; Б. ефективність; В. відповідність вимогам НТД; Г. побічні ефекти.

9. Чи лікувалися Ви антибіотичними препаратами такої ж фармакологічної дії імпортного виробництва:

А. так; Б. важко згадати; В. ні.

10. Як ви оцінюєте ефективність імпортного препарату такої фармакологічної дії (у випадку відповіді А на 9 запитання):

А. низькоефективний; Б. малоефективний; В. високоефективний.

Дякуємо Вам за участь в опитуванні!

-Договір на виконання НДР

Договір № ___

про виконання науково-дослідних робіт

м. Київ “ “ _________ 20__ р.

Національний технічний університет України «КПІ ім. І.Сікорського», надалі за текстом Виконавець, в особі, який діє на підставі Статуту, з одного боку, та____

(повна назва замовника)

надалі за текстом Замовник, в особі директора ____,

(ПІБ Замовника)

який(-а) діє на підставі Статуту _______________, з другого боку, а разом надалі за текстом – Сторони, уклали даний Договір про наступне:

1.Предмет договору

За даним Договором Виконавець зобов’язується провести за завданням Замовника наукові дослідження, а Замовник зобов’язується їх прийняти та оплатити на умовах, визначених цим Договором.

Під науковими дослідженнями, вказаними в п. 1.1. цього Договору Сторони розуміють: ____

(далі за текстом Договору – роботи).

2.Порядок виконання робіт

Сторони домовились про те, що роботи, визначені в п. 1.2. цього Договору будуть виконуватись у порядку в терміни, визначені технічним завданням (додаток № 1 до даного Договору, який є його невід’ємною частиною). В технічному завданні визначається перелік наукової, технічної та іншої документації, що підлягає передачі Виконавцем Замовнику по завершенню робіт за Договором.

Термін завершення усіх робіт за цим Договором – “ ” _____ 20__ р.

Виконавець приступає до виконання робіт після отримання від Замовника технічного завдання та іншої, необхідної для виконання робіт документації.

Закінчення виконання кожного етапу робіт посвідчується Актом здачі-приймання етапу виконаних робіт, який підписується повноважними представниками Сторін з додатком до нього:

- комплекту наукової, технічної документації, передбаченої технічним завданням до кожного з етапів;
- протоколу комісії щодо приймання дослідних зразків (партій) нової техніки, виготовлених за Договором (для договорів, виконання яких передбачає приймальні випробування дослідних зразків (партії) нової техніки);
- копії протоколу науково-вченої ради Виконавця із висновком про відповідність виконаної роботи науковому дослідженню.

Замовник протягом 3-х робочих днів з дня отримання Акту здачі-приймання етапу виконаних робіт з додатками до нього, зобов’язаний направити Виконавцю підписаний Акт здачі-приймання етапу виконаних робіт або мотивовану відмову від прийняття робіт.

У випадку неотримання Виконавцем від Замовника підписаного Акту здачі-приймання виконаного етапу робіт, або мотивованої відмові від його підписання, у строк, встановлений п. 2.6. цього Договору, роботи вважаються виконаними належним чином. Завершення всього комплексу робіт посвідчується підсумковим Актом здачі-приймання виконаних робіт. З моменту підписання цього Акту робота вважається завершеною, а обов’язки Виконавця виконаними.

У випадку мотивованої відмови Замовника від підписання Акту здачі приймання виконаних робіт (етапу робіт) Сторонами складається відповідний Акт з переліком необхідних доробок та термінів їх виконання.

У випадку дострокового виконання робіт Замовник має право достроково прийняти й оплатити виконані Виконавцем роботи. Про скорочення термінів виконання робіт, покращення техніко-економічних параметрів розробки, підвищення експортних можливостей Замовника від виконаної роботи, за проведення Виконавцем варіантних досліджень, експериментів і робіт по дизайну з метою задоволення спеціальних вимог Сторони можуть передбачити доплату, розмір якої визначається в Додатковій угоді до цього Договору.

Якщо у ході виконання науково-дослідних робіт виявляється неможливість досягнення результату внаслідок обставин, що не залежать від Виконавця, Замовник зобов'язаний оплатити роботи, проведені до виявлення неможливості отримати передбачені цим Договором результати, але не вище відповідної частини ціни робіт, визначеної відповідно до п. 5.1. даного Договору.

3.Права та обов'язки сторін

3. Сторони мають права та несуть обов'язки, передбачені даним Договором.

Обов'язки Виконавця:

- виконати роботи відповідно до погодженого з Замовником технічного завдання і передати Замовникові результат робіт у строк, встановлений п. 2.3. даного Договору;
- додержувати вимог, пов'язаних з охороною прав інтелектуальної власності;
- вживати заходів для захисту одержаних при виконанні робіт результатів, що підлягають правовій охороні, та інформувати про це Замовника;
- своїми силами та за свій рахунок усувати допущені з його вини недоліки у технічній документації, які можуть спричинити відступи від техніко-економічних показників, передбачених у технічному завданні Замовника;
- негайно інформувати Замовника про виявлену неможливість одержати очікувані результати або недоцільність продовжувати роботу;

Права Виконавця:

- залучати до виконання науково-дослідних робіт інших осіб за згодою Замовника;
- не приступати до виконання робіт у випадку невиконання Замовником свого обов'язку, передбаченого. п. 3.3.3. даного Договору;

- використовувати результати досліджень у наукових цілях: публікувати у наукових виданнях та використовувати для написання дисертаційних робіт та монографій.
- інші права, що витікають з положень цього Договору.

Обов’язки Замовника:

- видати Виконавцеві технічне завдання та погодити з ним програму (техніко-економічні показники) або тематику робіт;
- оплатити роботи, що є предметом цього Договору у термін, визначений п. 5.2. Договору;
- передати Виконавцеві необхідну для виконання робіт інформацію;
- прийняти виконані роботи.

Права Замовника:

- слідкувати за належним виконанням Виконавцем своїх обов’язків за Договором;
- отримувати від Виконавця інформацію щодо ходу робіт, які є предметом цього Договору;
- інші права, що витікають з положень цього Договору.
-

4.Права сторін на результати робіт

Замовнику належать такі майнові права на результати робіт, що є предметом цього Договору:

- використання одержаного результату робіт з власного розсуду;
- публічного виконання і публічного сповіщення результатів досліджень;
- публічної демонстрації і публічного показу результатів досліджень;

Виконавцю належать такі немайнові права на результати робіт, що є предметом цього Договору:

- вимагати збереження цілісності результатів досліджень і протидіяти будь-якому перекрученню, спотворенню чи іншій зміні результатів досліджень або будь-якому іншому посяганню на них, що може зашкодити честі і репутації Виконавця.

Виконавцю належать такі майнові права на результати робіт, що є предметом цього Договору:

- використання одержаного ним результату робіт для себе особисто шляхом написання статей, монографій та дисертаційних робіт.

5.Вартість робіт та порядок розрахунків

Вартість робіт, що є предметом цього Договору визначається відповідно до Протоколу про погодження договірної ціни, й становить суму у розмірі _________________, плюс ПДВ (20 %)___________, і всього ________________.

Вказана в п. 5.1. сума грошових коштів підлягає сплаті Замовником одноразово – 100% у термін до______ банківських днів з дні підписання цього Договору шляхом перерахування на поточний рахунок Виконавця.

Вартість робіт, що є предметом цього Договору може бути переглянута у випадку настання обставин, зазначених в п. 2.12 даного Договору, що повинно бути оформлено Додатковою угодою.

6.Забезпечення зобов’язань, відповідальність сторін

Виконавець відповідає перед Замовником за порушення цього Договору, якщо не доведе, що порушення договору сталося не з його вини.

За прострочення виконання свого обов’язку, передбаченого п. 3.3.2 даного Договору, Замовник зобов’язується сплатити на користь Виконавця пеню у розмірі подвійної облікової ставки НБУ, що діяла в період, за який нараховується пеня.

7.Конфіденційність відомостей про договір

Виконавець і Замовник зобов'язані забезпечити конфіденційність відомостей отриману один від одного під час виконання умов цього Договору, ходу виконання робіт.

Конфіденційною є вся інформація, документи, отримані один від одного, а також розмір та порядок оплати послуг Виконавця Замовником.

8.Порядок укладення договору та строк його дії

Замовник зобов’язується підписати даний Договір та повернути один примірник Виконавцю, протягом 3-х днів, з дня його отримання. У разі, якщо Договір не підписаний протягом 3-х днів з дня отримання, то він вважається неукладеним.

Договір набуває чинності з моменту його укладення. Договір є укладеним з дня досягнення Сторонами згоди щодо усіх істотних умов, які передбачені даним Договором, яке виражається у вигляді підписання наступних документів:

- Договір.
- Технічне завдання.
- Календарний план робіт.
- Протокол договірної ціни.

Строком дії договору є час, протягом якого Сторони можуть здійснити свої права і виконати свої обов'язки відповідно до договору та є строком з дня набуття договором чинності та до “____”________ 20___ р.

У разі необхідності, Сторони можуть не пізніше ніж за 10 днів до закінчення строку дії даного Договору, пролонгувати строк його дії, шляхом укладання відповідної Додаткової угоди.

9.Юридичні адреси та банківські реквізити сторін

Виконавець Замовник

Джерела фінансування НДР

Основним джерелом фінансування НДР є залучення інвестицій від підприємств фармацевтичної галузі, що зацікавлені у розробці даного інноваційного продукту. Залучення відбувається не лише завдяки хорошим техніко-економічним показникам, а і через прикладний характер наукових досліджень, що є гнучким, оригінальним і має потенційні можливості для розширення.

Капіталовкладення при впровадженні проекту у промисловості складають 2 250 000 грн., з яких основні фонди потребують інвестицій у розмірі 450 000 грн, а оборотні засоби – 1 900 300 грн.

Розрахунок ціни інноваційної пропозиції

1. Витратний метод.

$$Ц = С + \%П = \frac{2250000}{926200} + 5\% = 37 \text{ грн.}$$

Де Ц – ціна одиниці товару, грн., С – собівартість одиниці, грн., %П – відсоток прибутку, %П = 5%.

2. Агрегатний метод.

$Ц = Ц_1 + Ц_2 + \ldots + Ц_n = 0{,}9 + 0{,}1 + 14{,}2 + 18{,}20 + 0{,}20 + 1{,}44 + 0{,}8 + 1{,}071 + 12{,}2 + 9{,}21 + 1{,}76 + 0{,}3 + 0{,}44 = 46{,}44$ грн.

Де Ц - ціна одиниці товару, грн., $Ц_{1\ldots n}$ – ціни складових частин, грн.

3. Параметричний метод.

$$Ц_н = \frac{Бн}{Бб} \cdot Ц_б = \frac{23}{22} \cdot 64{,}5 = 67{,}4 \text{ грн.}$$

Де $Ц_н$ – ціна нового продукту, грн., $Ц_б$ – ціна базового продукту (була взята ціна за упаковку №10 1г індійського аналога), грн., $Б_б$ – бали за властивості базового продукту, $Б_н$ – бали за властивості нового продукту (вирішальними і принципово новими були: консистенція продукту, що зручніша у використанні, не спричиняє плям при потраплянні на одяг та може бути використана людьми з жирним типом шкіри; нижча концентрація ментолу, який може бути алергеном, і, відповідно, помірніший запах продукту; освіжаюча та тонізуюча дія засобу).

4. Метод точки беззбитковості.

$$Ц = С = \frac{2250000}{926200} = 34{,}42 \text{ грн.}$$

Де Ц – ціна одиниці товару, грн., С – собівартість одиниці, грн.

5. Метод конкурентних цін.

$$Ц = \frac{Ц x1 + Ц x2 + Ц x3}{N} = \frac{67{,}4 + 128{,}5}{2} = 97{,}95 \text{ грн.}$$

Де Ц – ціна одиниці товару, грн., $Ц_{x1,x2,x3}$ – ціни конкурентів, грн., N – кількість використаних цін конкурентів.

Для ціноутворення був обраний параметричний метод, оскільки саме він дає чітке уявлення про переваги властивостей нового продукту над базовими, забезпечує отримання прибутку, що є дуже необхідним для подальшого розширення і розвитку на ринку підприємства, і при цьому ціна залишається конкурентно здатною відносно аналогів на ринку.

5.5 Оцінка ризиків та страхування розробки

<u>Перелік ризиків інноваційної розробки та їх вплив на очікуваний результат</u>

Інноваційна діяльність більшою мірою, ніж інші види діяльності, пов'язана з ризиком, так як повна гарантія благополучного результату практично відсутня, для інновації справедливо правило: якщо немає ризику, то немає і нічого нового.

Зазвичай виділяють наступні групи ризиків:

1. Виробничі ризики. Вони пов'язані з невиконанням підприємством своїх планів і зобов'язань по виробництву продукції в результаті несприятливого впливу зовнішнього середовища, а також неадекватного використання нової техніки і технологій, основних і оборотних засобів, сировини, робочого часу. Серед найбільш важливих причин виникнення виробничого ризику можна відзначити: зниження передбачуваних обсягів виробництва, зростання матеріальних і/або інших витрат, сплата підвищених відрахувань та податків, низька дисципліна поставок, пошкодження обладнання. Коефіцієнт впливу на дохід становить 0,95-0,99.

2. Комерційні ризики. Це ризики, що виникають в процесі реалізації товарів, вироблених підприємством. Причинами комерційного ризику є: зниження обсягу реалізації внаслідок зміни кон'юнктури чи інших обставин, втрати товарів в процесі обігу, підвищення витрат обігу, виникнення дефекту товару в дорозі, поява конкурентів з нижчою ціною. Коефіцієнт впливу на дохід становить 0,91-0,99.

3. Фінансові ризики. Ця група ризиків пов'язана з можливістю невиконання фірмою своїх фінансових зобов'язань. Основними причинами є: інфляція, нездійснення платежів, ризик неплатоспроможності споживачів. Коефіцієнт впливу на дохід становить 0,98-0,99.

4. Страхові ризики. Результатом ризику є збитки, викликані неефективною страховою діяльністю як на етапі, що передує укладенню договору страхування, так і на подальших етапах - перестрахування, формування страхових резервів. Коефіцієнт впливу становить 0,95-0,98.

5. Організаційні ризики. Це ризики, пов'язані з помилками менеджменту компанії, її співробітників, проблемами системи внутрішнього контролю, погано розробленими правилами робіт, складності забезпечення підприємства кадрами необхідної кваліфікації, проблемами з організацією збутової мережі. Коефіцієнт впливу на дохід становить 0,95-0,99.

6. Техніко-виробничі ризики. Це ризики нанесення шкоди навколишньому середовищу (екологічний ризик), ризик виникнення аварій, пожеж, поломок, необхідність доопрацювання елементів обладнання в процесі виробництва. Коефіцієнт впливу на дохід становить 0,98-0,99.

Методи страхування

Хоча ризики є невід’ємною частиною будь-якої інноваційної діяльності, як було сказано раніше, їх частково або повністю можна уникнути за допомогою методів страхування ризиків, до яких належать:

1. Форвардні операції, ф’ючерси, опціони.
2. Кредитування та інвестування в іноземній валюті.
3. Лізинг.
4. Страхування майна, самострахування.
5. Проведення дослідно-випробувальних робіт.
6. Перевірка потреб споживачів та ретельні маркетингові дослідження.
7. Кооперація з іноземними виробниками та інвесторами.
8. Розширення асортименту продукції.
9. Розширення ринків збуту.

6 Рекомендації з монтажу та експлуатації

Складальні роботи з монтажу полягають в установці апаратів на металоконструкції, установці і приєднанні допоміжного устаткування, приєднання трубопроводів, деталей вузлів підведення і відводу продуктів, установці приладів теплового контролю й автоматичного регулювання. У процесі монтажу виявляються й усуваються дефекти конструкції і виготовлення апаратури. Одночасно здійснюється налагодження роботи апарата з метою підготовки до експлуатації.

Проектом виробництва монтажно-складальних робіт передбачається наступна послідовність операцій складання:

- установка корпуса апарата на металоконструкцію;
- установка елементів, що знаходяться всередині апарата;
- припасування і приєднання всіх трубопроводів;
- установка арматури і контрольно-вимірювальних приладів;
- герметизація місць з'єднання апарата (кришок, фланців і т.д.);
- приєднання допоміжних механізмів і пристроїв;
- установка огороджень;
- випробування апарата на герметичність і здача інженеру Держтехнагляду;
- пробна експлуатація установки;
- проведення теплоізоляційних робіт (якщо потрібно);
- здача установки в експлуатацію.

Після закінчення монтажно-збиральних робіт апарат має неодмінно пройти випробування. Спочатку проводять підготовчі роботи, пов'язані з оглядом та перевіркою стану всіх частин та вузлів апарата. При цьому особливу увагу необхідно звернути на присутність в конструкції арматури, приладів, кришок, заглушок, болтів, прокладок та інших деталей, які забезпечують герметичність системи.

В програму випробувань входить гідравлічне та пневматичне випробування апарата разом з трубопроводами на тиск, який вказаний на кресленні. При випробуваннях виявляють герметичність та надійність роботи вентилів, кранів, клапанів та іншої арматури, а також щільність всіх роз'ємних з'єднань.

Підготовка апарата до експлуатації включає перевірку витрат холодоносіїв, температур холодоносіїв на вході та на виході з апарату, тиск всередині апарата та в трубопроводі. При цьому слід звернути увагу на легкість та надійність управління технологічним процесом.

Результати випробувань виявляють дефекти та недоліки, які заносять в акт випробувань на конкретно взятий апарат.

Апарат вважається прийнятим в експлуатацію після підписання акту з боку представників монтажної організації та замовника.

Для дотримання правильного експлуатаційного режиму використовуючих тепло установок необхідні:

- справність і безперебійність роботи устаткування;
- високий рівень кваліфікації обслуговуючого персоналу;
- забезпечення необхідними видами енергії і раціональна її витрата.

Для безперебійної роботи устаткування необхідний: достатній резерв основного і допоміжного устаткування і дотримання правил технічної експлуатації, своєчасне виконання планово-попереджувальних ремонтів устаткування і наявність запасних частин для вузлів і деталей, які швидко зношуються.

Висновки

На сьогодні відомо багато технологій отримання екологічного біопалива з біомаси водоростей, але обертів набирає саме вирощування у фотобіореакторах, оскільки є можливість регулювання та контролювання проходження процесу культивування.

В даному дипломному проекті представлений лабораторний фотобіореактор для дослідження вирощування мікроводоростей. На основі патентного пошуку було подано заявку на отримання патенту на корисну модель «Лабораторний фотобіореактор», в якому новим є те, що корпус лабораторного фотобіореактора виконаний з гофрованого полімеру, армованого стальною пружиною, який освітлюється лампами денного світла з віддзеркалювальними екранами.

В проекті розглянуто та запропоновано математичну модель росту мікроводоростей у порожнинному фотобіореакторі та розроблено 3D модель проектуємого апарата – лабораторного фотобіореактора.

Усі розрахунки та креслення виконанні у відповідності до чинних нормативних документів України.

Перелік посилань

1. Safi C., Zebib B., Merah O., Pontalier P. Y., Garcia C. V. Morphology, composi tion, production, processing and applications of Chlorella vulgaris: A review // Ren. and Sust. Energy Rev. – 2014. – №35. – С. 265–278.
2. Fradique M., Batista A. P., Nunes M. C., Gouveia L., Bandarra N. M., Raymundo A. Incorporation of Chlorella vulgaris and Spirulina maxima biomass in pasta products. Part 1: preparation and evaluation // J. Sci. Food Agric. – 2010. – №90. – С. 1656–1664.
3. González Fernández C., Sialve B., Bernet N., Steyer J. P. Impact of microalgae characteristics on their conversion to biofuel. Part I: focus on cultivation and biofuel production // Biofuel. Bioprod. Biorefin. – 2012. – №6. – С. 105–113.
4. Mata T. M., Martins A. A., Caetano N. S. Microalgae for biodiesel production and other applications: a review // Renew. Sustain. Energy Rev. – 2010. – №14. – С. 217–232.
5. Spolaore P., Joannis Cassan C., Duran E., Isambert A. Commercial application s of microalgae // J. Biosci. Bioeng. – 2006. – №101. – С. 87–96.
6. Hu Q., Sommerfeld M., Jarvis E., Ghirardi M., Posewitz M., Seibert M., et al. Microalgal triacylglycerols as feedstocks for biofuel production: perspectives and advances // Plant. J. – 2008. – №54. – С. 621–639.
7. Beijerinck M. Kulturversuche mit Zoochlorellen, Lichenengonidien und andere n niederen // Algen. Botanische. Ztg. – 1890. – №48. – С. 729.
8. Kitada K., Machmudah S., Sasaki M., Goto M., Nakashima Y., Kumamoto S., et al. Supercritical CO2 extraction of pigment components with pharmaceutical importance from Chlorella vulgaris // J. Chem. Technol. Biotechnol. – 2009. – №84. – С. 657-661.
9. Morris H. J., Carrillo O. V., Almarales Á., Bermúdez R. C, Alonso M. E., Borges L, et al. Protein hydrolysates from the alga Chlorella vulgaris 87/1 with potentialities in immunonutrition // Biotecnol. Appl. – 2009. – №26. – С. 162-165.

10. de Souza Queiroz J., Barbosa C. M., da Rocha M. C., Bincoletto C, Paredes Ga mero E. J., de Souza Queiroz M. L., et al. Chlorella vulgaris treatment ameliorates the suppressive effects of single and repeated stressors on hematopoiesis // Brain Behav. Immun. – 2012. – №29. – С. 39-50.
11. Sano T., Tanaka Y. Effect of dried, powdered Chlorella vulgaris on experiment al atherosclerosis and alimentary hypercholesterolemia in cholesterolfed rabbits // Art ery. – 1987. – №14. – С. 76-84.
12. Zheng H., Yin J., Gao Z., Huang H., Ji X., Dou C. Disruption of Chlorella vulg aris cells for the release of biodiesel producing lipids: a comparison of grinding, ultra-sonication, bead milling, enzymatic lysis, and microwaves // Appl. Biochem. Biotech nol. – 2011. – №164. – С. 1215-1224.
13. Yamamoto M., Fujishita M., Hirata A., Kawano S. Regeneration and maturatio n of daughter cell walls in the autospore-forming green alga Chlorella vulgaris (Chlorophyta, Trebouxiophyceae) // J. Plant. Res. – 2004. – №117. – С. 257-264.
14. Brennan L., Owende P. Biofuels from microalgae a review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products // Renew. Sustain. Energy Rev. – 2010. – №14. – С. 557-577.
15. Přibyl P., Cepák V., Zachleder V. Production of lipids and formation and mobilization of lipid bodies in Chlorella vulgaris // J. Appl. Phycol. – 2013. – №25. – С. 545-553.
16. Converti A., Casazza A. A., Ortiz E. Y., Perego P., Del Borghi M. Effect of temperature and nitrogen concentration on the growth and lipid content of Nannochloropsis oculata and Chlorella vulgaris for biodiesel production // Chem. Eng. Process: Process Intensif. – 2009. – №48. – С. 1146-1151.
17. Lv J. M., Cheng L. H., Xu X.H., Zhang L., Chen H. L. Enhanced lipid producti on of Chlorella vulgaris by adjustment of cultivation conditions // Bioresour. Technol. – 2010. – №101. – С. 6797-6804.
18. Liu Z. Y., Wang G. C., Zhou B. C. Effect of iron on growth and lipid accumula tion

in Chlorella vulgaris // Bioresou. Technol. – 2008. – №99. – С. 4717-4722.

19. Richmond A., Boussiba S., Vonshak A., Kopel R. A new tubular reactor for ma ss production of microalgae outdoors // J. Appl. Phycol. – 1993. – №5. – С. 327-332.
20. Chojnacka K., Marquez Rocha F. J. Kinetic and stoichiometric relationships of the energy and carbon metabolism in the culture of microalgae // Biotechnology. – 2004. – №3. – С. 21-34.
21. Chisti Y. Biodiesel from microalgae // Biotech. Adv. – 2007. – №25. – С. 294-306.
22. Lee Y. K. Microalgal mass culture systems and methods: their limitation and p otential // J. Appl. Phycol. – 2001. – №13. – С. 307-315.
23. Liang Y., Sarkany N., Cui Y. Biomass and lipid productivities of Chlorella vul garis under autotrophic, heterotrophic and mixotrophic growth conditions // Biotechn ol. Lett. – 2009. – №31. – С. 1043-1049.
24. Khoeyi Z. A., Seyfabadi J., Ramezanpour Z. Effect of light intensity and photo period on biomass and fatty acid composition of the microalgae, Chlorella vulgaris // Aquacult. Int. – 2012. – №20. – С. 41-49.
25. Tzovenis I., Pauw N. D., Sorgeloos P. Effect of different light regimes on the d ocosahexaenoic acid (DHA) content of Isochrysis aff. Galbana (clone T ISO) // Aquac. Int. – 1997. – №5. – С. 489-507.
26. Sanchez Saavedra M. P., Voltolina D. Effect of photon fluence rates of white a nd blue-green light on growth efficiency and pigment content of three diatom species in batch cultures // Cienc. Mar. – 2002. – №28. – С. 273-279.
27. Bouterfas R., Belkoura M., Dauta A. The effects of irradiance and photoperiod on the growth rate of three freshwater green algae isolated from a eutrophic lake // Li mnetica. – 2006. – №25. – С. 647-656.
28. Daliry S., Hallajisani A., Mohammadi Roshandeh J., Nouri H., Golzary A. Inve stigation of optimal condition for Chlorella vulgaris microalgae growth // Global J. E nviron. Sci. Manage. – 2007. – №3. – С. 217-230.
29. Hultberg M., Asp H., Marttila S., Bergstrand K. J., Gustafsson S. Biofilm Form ation by Chlorella vulgaris is Affected by Light Quality // Curr. Microbiol. –

2014. – №69. – C. 699-702.

30. Al Qasmi M., Raunt N., Talebi S., Al Rajhi S., Al Barwani T. A review of effe ct of light on microalgae growth // Proceedings of the World Congress on Engineerin g. – 2012. – №1. – C. 4-6.
31. Blair M. F., Kokabian B., Gude V. G. Light and growth medium effect on Chlo rella vulgaris biomass production // J. of Envir. Chem. Engin. – 2014. – №2. – C. 665-674.
32. Yan C., Zhang L., Luo X., Zheng Z., Effects of various LED light wavelengths and intensities on the performance of purifying synthetic domestic sewage by microal gae at different influent C/N ratios // Ecol. Eng. – 2013. – №51. – C. 24-32.
33. Khalili A., Najafpour G. D., Amini G., Samkhaniyani F. Influence of Nutrients a nd LED Light Intensities on Biomass Production of Microalgae Chlorella vulgaris // Biotech. and Biopro. Eng. – 2015. – №20. – C. 284-290.
34. Ruyters G. Effects of blue light on enzymes, in: H. Senger (Ed.), Blue Light Ef fects in Biological Systems, Springer-Verlag, Berlin, – 1984. – C. 283-301.
35. Barghbani R., Rezaei K., Javanshir A. Investigating the effects of several para meters on the growth of Chlorella vulgaris using Taguchi's experimental approach // Int. J. Biotechnol. Wellness Ind. – 2012. – №1. – C. 128-133.
36. Matthijs H. C., Balke H., Van Hes U. M., Kroon B., Mur L. R., Binot R. A. Ap plication of light emitting diodes in bioreactors: Flashing light effects and energy eco nomy in algal culture (Chlorella pyrenoidosa). Biotechnol. Bioeng. – 1996. – №50. – C. 98-107.
37. Kim D. G., Lee C., Park S. M., Choi Y. E. Manipulation of light wavelength at appropriate growth stage to enhance biomass productivity and fatty acid methyl ester yield using Chlorella vulgaris // Biores. Tech. – 2014. – №159. – C. 240-248.
38. Wang C. Y., Fu C. C., Liu Y. C. Effects of using light emitting diodes on the c ultivation of Spirulina platensis. Biochem. Eng. J. – 2007. – №37. – C. 21-25.
39. Lee C. G., Palsson B. Ø. High density algal photobioreactors using light emitti

ng diodes // Biotechnol. Bioeng. – 1994. – №44. – С. 1161-1167.

40. Das P., Lei W., Aziz S. S., Obbard J. P. Enhanced algae growth in both phototrophic and mixotrophic culture under blue light // Biores. Tech. – 2001. – №102. – С. 3883-3887.
41. Oldenhof H., Zachleder V., van den Ende H. Blue and red light regulation of the cell cycle in Chlamydomonas reinhardtii (Chlorophyta) // Eur. J. Phycol. – 2006. – №41. – С. 313-320.
42. [Електронний ресурс]. http://tech-life.org/technologies/273-algae-industry
43. Патент № 102777 (UA), C12M 1/00, 1/04. Лабораторний фотобіореактор / Кравченко І.П., Дідківська Г.Г., Карпенко В.І.; Заявка № u201502888; 30.03.2015. Опубл. 25.11.2015. Бюл. №22.
44. Патент № 98655 (UA), A01G 33/00, C12M 3/02. Установка для культивування мікроводоростей / Голуб Н.Б., Левтун І.І., Хворостина О.В.; Заявка № u201407870; 14.07.2014. Опубл. 12.05.2015. Бюл. №9.
45. Гладышев П.А. Разработка фотобиореакторов для замкнутых экологических систем жизнеобеспечения: Дис. канд. хим. наук / Рос. хим.-технол. ун-т им. Д.И. Менделеева. М., 2007. – 139с.
46. Рубин А.Б. Биофизика. Т. 2./ А.Б.Рубин М., 1999. – 325с.
47. Лебедева Г.В. Кинетическая модель фотосистемы II высших растений / Г.В. Лебедева, Н.В. Беляева, Г.Ю. Ризниченко, А.Б. Рубин, О.В. Демин // Журнал физ. химии. 2000. Т. 74. № 10. С. 1874—1883.
48. Паников Н.С. Кинетика роста микроорганизмов / Н.С.Паников. М.: Наука, 1991. – 312с.
49. Патент EP 1 142 985 A1. 2001. Chlorophyll-rich and salt-resistant chlorella. – Nakanishi Koichi.

Додатки

Додаток А.Патентний пошук

1 Патентний пошук

Патентна документація

РЕГЛАМЕНТ ПОШУКУ № БІ81мп03.577.115.083.000-10

Найменування теми Лабораторний фотобіореактор Шифр теми БІ81мп03.577.115.083.000-10

Етап Проектування апарата та його складових частин

Номер, дата завдання на проведення патентних досліджень № БІ81мп03.577.115.083.000-10 10.05.2019 р.

Обґрунтування регламентного пошуку Предмет пошуку – Лабораторні фотобіореактори (Об'єктом пошуку є винаходи та корисні моделі).

Початок пошуку 10.05.2019 р. Закінчення пошуку 19.05.2019 р.

Таблиця 1 – Регламент пошуку (форма Б.1 згідно з ДСТУ 3575-97)

Предмет пошуку (ОГД, його складові частини)	Мета пошуку інформації	Держава пошуку	Класифікаційні індекси: МПК,НПК,МКПЗ, МКТП,УДК	Ретроспек-тивність пошуку	Джерела інформації
1	2	3	4	5	6
Лабораторний фотобіореактор	Визначення патентоздатності проектованого апарата й визначення тенденцій розвитку цього напряму в техніці	Україна, Російська Федерація,	МПК С12М 1/00, 1/04	1991-2018	Національні й зарубіжні офіційні бюлетені, описи винаходів і корисних моделей, та баз даних патентних установ ЕС та США

ДОВІДКА ПРО ПОШУК № БІ81мп03.577.115.083.000-10

Завдання на проведення патентних досліджень БІ81мп03.577.115.083.000-10 ДП

Етап Проектування апарата та його складових частин

Номер, дата завдання на проведення патентних досліджень № БІ81мп03.577.115.083.000-10 10.05.2019 р.

Номер, дата регламенту пошуку № БІ81мп03.577.115.083.000-10 10.05.2019 р.

Початок пошуку 10.05.2019 р. Закінчення пошуку 19.05.2019 р.

Таблиця 2 – Джерела інформації, використані під час проведення пошуку (Форма В.1 згідно ДСТУ 3575-97)

ОГД, його складові частини	Держава пошуку	Класифікаційні індекси: МПК, НПК, МКПЗ, МКТП, УДК	Інформаційна база, використана під час пошуку	Бібліографічні дані першого та останнього за хронологією джерела інформації	
				Патентна інформація	Інша науково-технічна інформація
1	2	3	4	5	6
Лабораторний фотобіореактор	Україна, Російська Федерація	МПК C12M 1/00, 1/04	Визначення патентоздатності проектованого апарата й визначення тенденцій розвитку цього напряму в техніці	1991-2018	Національні й зарубіжні офіційні бюлетені, описи винаходів і корисних моделей,та баз даних патентних установ

Таблиця 3 - Патентна документація, відібрана для подальшого аналізу

ОГД, його складові частини	Бібліографічні дані	Відомості, щодо їхньої дії
Лабораторний фотобіореактор	Патент № 102777 (UA), C12M 1/00, 1/04. Лабораторний фотобіореактор / Кравченко І.П., Дідківська Г.Г., Карпенко В.І.; Заявка № u201502888; 30.03.2015. Опубл. 25.11.2015. Бюл. №22.	Діє
Установка для культивування мікроводоростей	Патент № 98655 (UA), A01G 33/00, C12M 3/02. Установка для культивування мікроводоростей / Голуб Н.Б., Левтун І.І., Хворостина О.В.; Заявка № u201407870; 14.07.2014. Опубл. 12.05.2015. Бюл. №9.	Дію припинено, але може бути поновлено