

**МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ І НАУКИ УКРАЇНИ ЧЕРНІВЕЦЬКИЙ  
НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ ЮРІЯ ФЕДЬКОВИЧА**

**Навчально-науковий інститут біології, хімії та біоресурсів**

**Кафедра біохімії та біотехнології**

**ОПТИМІЗАЦІЯ ПРОЦЕСУ ОТРИМАННЯ БІОДИЗЕЛЮ З БІОМАСИ  
*NOSTOC LINCKIA (BORNET EX BORNET ET FLAHAULT, 1886)***

**Кваліфікаційна робота**

**Рівень вищої освіти – перший (бакалаврський)**

*Виконав:*

студент 4 курсу, групи 407

спеціальність

162 Біотехнології та біоінженерія

**Лупанов Денис Валерійович**

Керівник:

Кандидат біологічних наук, доцент

**Чебан Лариса Миколаївна**

*До захисту допущено*

*на засіданні кафедри*

*протокол № \_\_\_\_\_ від \_\_\_\_\_ 2024 р.*

*Зав. кафедрою \_\_\_\_\_ проф. Копильчук Г. П.*

**Чернівці – 2024**

## ЗМІСТ

ВСТУП	5
РОЗДІЛ I. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	7
1.1 Біодизель та перспективи його використання	7
1.2 Сировина для отримання біодизелю	10
1.3 Мікродорості як перспективна сировина	12
РОЗДІЛ II. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ	20
2.1 Матеріали дослідження	20
2.2 Схема отримання біодизелю	21
2.3 Методи дослідження	23
2.4. Статистичний аналіз результатів	24
РОЗДІЛ III. РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ	25
3.1 Оптимізація процесу екстракції	25
3.2 Оптимізація процесу рафінування	29
ВИСНОВКИ	34
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	35
ДОДАТКИ	39
Додаток А.	
Техніка безпеки в лабораторії біотехнологічного профілю	
Додаток Б.	
Публікації за темою дослідження	

## **Анотація**

*Робота присвячена оптимізації процесу отримання очищених ліпідів для виробництва біодизелю із біомаси *Nostoc linckia* вирощеної на середовищі мінімального мінерального складу. Під час проведення дослідження було визначено вихід ліпідів до та після процесу рафінування. Система розчинників петролейний ефір : бутанол (1 : 2) виявилась найбільш ефективною при екстрагуванні ліпідів *N. linckia*. У екстракті перевіряли наявність фосфоліпідів, вільних жирних кислот, речовин кислої природи та восків. В залежності від їх присутності було встановлено обов'язкові етапи рафінування ліпідів. Біомаса *N. linckia* є перспективною сировиною для отримання біодизелю. Оптимізована методика дозволяє отримати очищені ліпіди у кількості 19,4% від сухої маси сировини.*

**Ключові слова:** *Nostoc linckia* (Bornet ex Bornet et Flahault, 1886), біодизель, ліпіди, екстракція, рафінування, мікродорості

## ***Abstract***

*The work is devoted to the optimisation of the process of obtaining purified lipids for the production of biodiesel from Nostoc linckia biomass grown on a medium of minimal mineral composition. The study determined the lipid yield before and after the refining process. The solvent system petroleum ether : butanol (1 : 2) was the most effective in the extraction of N. linckia lipids. The presence of phospholipids, free fatty acids, acidic substances and waxes in the extract was checked. Depending on their presence, the mandatory stages of lipid refining were determined. N. linckia biomass is a promising raw material for biodiesel production. The optimised methodology allows to obtain purified lipids in the amount of 19.4% of the dry weight of the biomass.*

***Keywords:*** *Nostoc linckia (Bornet ex Bornet et Flahault, 1886), biodiesel, lipids, extraction, refining, microalgae*

Кваліфікаційна робота містить результати власних досліджень. Використання ідей, результатів і текстів наукових досліджень інших авторів мають посилання на відповідне джерело.

\_\_\_\_\_ Д.В. Лупанов

## ВСТУП

В світі останніх подій, питання енергетичної незалежності країни стало критичним. Високі енергоносії не можуть забезпечити стабільність енергетичної системи України, головну роль у сфері енергетики почали виконувати ядерні електростанції, які виготовляють більше 50% електроенергії в Україні [13]. Тим не менш військові дії становлять неабияку небезпеку для ядерної енергетики, а як наслідок – всім прилеглим територіям. Недавнім трендом стало розповсюдження сонячних та вітрових електростанцій, вони дозволяють покривати нестачу електроенергії тоді, коли традиційні електростанції не справляються з піками навантаження. Недоліком таких джерел є їх залежність від погодних умов – швидкості вітру та хмарності. Вони потребують коштовного додаткового обладнання, як масиви акумуляторів, які зберігають енергію коли умови для її виробництва оптимальні та віддають її у інших випадках. Є актуальним пошук альтернативних джерел енергії, що не залежать від погодних умов, можуть піддатись децентралізації задля створення безпеки від бойових дій, будуть універсальними та вигідними в умовах, які склались на території держави.

Україна є аграрною країною, а отже біоенергетика в наших реаліях має дуже великі перспективи розвитку. В Україні вирощувались і по цей день вирощуються великі об'єми соняшнику, рапсу, енергетична верба та інших енергетичних культур. Тим не менш бойові дії сильно сказались на площі плідородних посівних земель, велика частина найплідородніших ґрунтів – чорнозему знаходяться на сході та півдні країни та виявилась в окупації, що унеможливило її експлуатацію. Окрім прямої окупації, проблему складає мінування земель, механічне та хімічне заґрязнення.

Мікробіоджерела можуть стати перспективним альтернативним джерелом сировини у біоенергетиці. Вони не потребують великих площ плідородних земель, можуть швидко нарощувати біомасу використовуючи лише мінімальні живильні середовища без потреби у добривах та додатковому

живленні, мають здатність до накопичення усіляких органічних сполук у великих концентраціях, можуть вирощуватись у біореакторах незалежно від погодних умов та можуть бути децентралізовані та захищені від бойових дій. Продукти, які можна отримати із мікрководростевої сировини не обмежені лише перспективою у виробництві електроенергії, але й можуть бути використані у експлуатації транспортних засобів, медицині, кормовій промисловості. Мікрводорості здатні накопичувати високі концентрації ліпідів, що є сировиною для отримання біодизелю - головного конкуренту традиційним рідким паливам.

Визначальним фактором актуальності біодизелю є ефективність його виготовлення. Для того, щоб мати можливість скласти конкуренцію традиційному дизелю, отримання біодизелю має бути економічним та продуктивним. Оптимізація всіх етапів від вибору та отримання сировини до очистки кінцевого продукту є пріоритетним напрямом розвитку для біодизелю та біоенергетики загалом.

Тому метою роботи було здійснити оптимізацію процесу отримання біодизелю із біомаси *Nostoc linckia*. Для цього були поставлені наступні завдання:

1. Оптимізувати етап екстракції: вибір оптимальної системи екстрагентів полярних та неполярних розчинників з метою максимального виходу ліпідів з біомаси *N. linckia*.
2. Оптимізувати етап рафінування: визначити необхідність та послідовність етапів очищення екстракту ліпідів *N. linckia*.
3. Здійснити контроль параметрів екстракту на всіх етапах виробництва біодизелю відносно арбітражних показників.
4. Встановити ймовірний вихід ліпідів для отримання біодизелю з біомаси *N. linckia*.

## РОЗДІЛ І. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

### 1.1. Біодизель та перспективи його використання

В світі існує велика кількість ефективних методів отримання відновлюваної енергії. До них відносяться: вітроенергетика, сонячна енергетика, гідроенергетика, геотермальна енергетика, енергетика довкілля та біоенергетика. Хоча й більша частина ЄС вже переводить свою енергетичну економіку на “зелений” курс, Україна є певним аутсайдером. Хоча більша частина електроенергії в нашій країні утворюється всередині ядерних електростанцій (54% станом на 2021р), велику долю енергетичного ринку посідає використання викопних енергоносіїв, так теплоенергостанції та теплоенергоцентралі надають 29,6% електроенергії [13]. Більш того, для отримання теплової енергії в різних підприємствах використовують переважно лише викопні енергоносії: природний газ (31,6%), вугілля (31,1%), сира нафта та нафтопродукти (17,5%), кокс та напівкокс (10,7%).

Стратегія розвитку зеленої енергетики в Україні до 2035 року має на меті збільшення використання біоенергетики більш ніж в 2 рази, сонячної та вітрової енергії в 10 раз, а термальної енергії в 4 рази.

Найбільшу цінність для України становить саме біоенергетика, оскільки наша країна володіє великими кількостями надзвичайно плодючих земель, які можна використати для вирощування енергетичних культур та зменшити таким чином імпорт невідновлювальних викопних енергоносіїв. Очікується, що з усіх відновлюваних джерел енергії найбільший внесок, особливо у коротко- та середньостроковій перспективі, буде отримано від біомаси. Паливо, отримане з енергетичних культур, не тільки потенційно поновлюване, але також досить схоже за походженням на викопне паливо (праосновою якого є також біомаса) та може забезпечити пряму заміну. Біоенергетичні культури

зручні для зберігання, транспортування, мають доступну ціну і можуть бути перетворені в широкий спектр енергоносіїв із використанням існуючих та нових технологій перетворення і, таким чином, потенційно можуть стати ваговою альтернативою традиційному паливу у двадцять першому столітті [10].

В Україні щорічно збирається понад 50 млн. т зернових культур. У значних обсягах солома і рослинні відходи, як побічні продукти сільськогосподарського рослинництва. Річний технічно-досяжний енергетичний потенціал твердої біомаси в Україні є еквівалентним 18 млн. т н.е., а його використання дає змогу щорічно заощаджувати близько 22 млрд. м. куб. природного газу [3].

Станом на 2018 рік для вирощування енергетичних культур в Україні використовувалось близько 4000 га землі, більшість з яких займає Волинська, Київська та Житомирська області.

- Волинська: 1700 га. Основний вид енергетичної культури: енергетична верба
- Київська: 380 га. Основні види енергетичних культур: енергетична верба, міскантус
- Житомирська: 110 га. Основні види енергетичних культур: міскантус, енергетична верба, тополя

Хоча теоретичний обсяг використання землі може сягати 1-4 млн. га, так що потенціал вирощування енергетичних культур в Україні в 1000 раз вищий від сьогоденних показників [4].

Основними продуктами біоенергетичного сектору є різного роду біопалива, які поділяються на первинні та вторинні. Первинні біопалива включають в себе деревні гранули, дрова, відходи сільського господарства відходи деревообробки, звалищний газ. Вторинні ж поділяються на 3 покоління:

- Перше покоління: біоетанол та біобутанол, які отримані шляхом

ферментації крохмалю (з пшениці, кукурудзи чи картоплі) або цукру (з цукрової тростини або буряку). Біодизель який отримали шляхом переестерифікації олійних культур як: соя, ріпак, соняшник, а також тваринних жирів.

- Друге покоління: Біоетанол та біодизель які отримані за традиційними технологіями з крохмалю, олії та цукру, які були отримані з високотехнологічних культур, таких як маніока, ятрофа або міскантус. Біоетанол та біобутанол, які отримані з лігноцелюлозних матеріалів (як солома, деревина чи трави)

- Третє покоління: Біодизель, біоетанол або водень, отримані з одноклітинних або багатоклітинних водоростей.

Біодизель - це продукт переестерифікації біомаси (ліпідів) з використанням каталізаторів при температурах до 60°C. Із хімічної точки зору біодизельне паливо є сумішшю метилових (етилових) ефірів насичених і ненасичених жирних кислот. Для інтенсифікації процесу переестерифікації можуть застосовувати надлишковий тиск та перемішування реакційної суміші [2]. Біодизель часто додають до звичайного дизельного палива для збільшення економічності двигуну [5]. Для органічного біопалива характерне високе цетанове число, через що його можна використовувати на існуючих дизельних двигунах без додавання спеціальних речовин, які б забезпечували краще запалювання палива під час роботи.

Цетанове число - показник якості дизельного палива. Цетанове число 100 характеризує паливо з найкращими антидетонаційними властивостями. Цетанове число 40-50 - нормальний показник пального для швидкохідних двигунів.

Біопаливо має високі мастильні властивості, чому сприяє хімічний склад та високий вміст кисню в ньому, що подовжує термін роботи двигуна між ремонтами в середньому на 50%. Переходячи на біодизель, не потрібно додатково переобладнувати ні сам двигун, ні інші його системи. Слід також

зазначити, що використання біодизелю не несе за собою ніякого негативного впливу на екологію, що робить його ще більш перспективним видом палива в сучасному світі. Навіть при потраплянні біодизелю в ґрунт він не залишає за собою сильного негативного впливу, адже повністю розкладається через 25-30 днів.

Як свідчать проведені дослідження, у продуктах згоряння біопалива на 8–10% менше окису вуглецю, майже на 50% менше сажі й значно менше сірки (0,005% проти 0,2% у звичайного дизельного палива), проте через високий вміст кисню в біопаливі продукти його згоряння містять приблизно на 10% більше окису азоту порівняно з нафтовим дизельним паливом.

Найбільшими недоліками біодизелю є його агресивна дія відносно полімерних та гумових деталей двигуна, що набагато сильніше пошкоджує дані матеріали, ніж паливо, основане на нафті. Біопаливо також дещо змінює технічно-експлуатаційні параметри двигуна, зокрема його потужність. Середнє зменшення потужності двигуна складає 6-8% при нормальному режимі роботи. Збільшується також і витрата палива на 5-8%, хоча це нівелюється його ціною, яка вдвічі менша за таку ж кількість нафтового палива. При потраплянні біодизелю на лакове покриття кузова воно може роз'їсти дане покриття, що зменшує комфортність використання біопалива, а при необережній використанні може призвести до певних грошових втрат користувача [14].

## **1.2. Сировина для отримання біодизелю**

Головним компонентом для отримання біодизелю є очищені рослинні або тваринні ліпіди та спирти (метанол, етанол), які використовуються в процесі переестерифікації. Інколи при переестерифікації використовується біоетанол, в такому випадку виробництво біодизелю стає повністю

відновлюваним та не несе ніякого негативного впливу на екологію, хоча цей метод є дуже важким через потребу абсолютизації біоетанолу [7].

Для ефективного утворення біодизелю сировина, яка використовується для отримання ліпідів повинна містити їх високий відсоток, адже вся інша біомаса при виробництві біодизелю не має ніякого застосування. З вищих рослин основною сировиною є: ріпакова олія (84% ринку), соняшникова олія (13%), соєва олія (1%), пальмова олія (1%). Також інколи застосовують промислові відходи різних олійних виробництв, або, використані при приготуванні, харчові олії [8].

Ріпак - найрозповсюдженіша культура для виготовлення біодизельного палива в світі. Його широко вирощують на полях європейських країн для подальшої переробки, однак в Україні ріпак не настільки розповсюджений. Ріпак - це однорічна олійна технічна культура родини капустяних (хрестоцвітих), яку часто називають біопаливною рослиною. Зазвичай для вирощування біомаси для виготовлення біопалива використовують ріпак озимий. Окрім біоенергетичних якостей ріпак має своє використання в лікофарбовій, харчовій, миловарній та інших галузях промисловості. Вдосконалення методів очищення олії значно збільшило кількість посівів ріпаку в Європі. Однак біодизель з ріпаку має як свої переваги так і недоліки.

До переваг можна віднести екологічність готового продукту. Біопаливо з ріпаку не залишає карбонового сліду, а вихід шкідливих газів (таких як оксид сірки) при спалюванні ріпакового біодизелю значно нижче ніж при спалюванні нафтового дизелю. Ріпак також є хорошим фітосанітаром ґрунту, збільшуючи його плодючість, через певний час вирощування на ньому ріпаку [14].

За останні 20 років посіви сої збільшилися вдвічі по всій планеті. Ця найпопулярніша в світі однорічна трав'яна зернобобова і олійна культура часто використовується для виготовлення кормів, а також цінної технічної і харчової олії. Соя - економічно вигідна культура, що не потребує додаткових витрат на збереження довкілля, а навпаки, сприяє цьому. В світі 30%

виробництва олій займає соєва олія. В США це найпопулярніша культура, яка використовується для виготовлення біодизелю. 80% всього біодизелю в США виготовлено на базі соєвої олії, країна також є найбільшим виробником і експортером сої, її вирощують у 29 штатах. Об'єм надходжень біодизельного палива із США в 2009 році склав 1,7 млн кілолітрів [15].

В Україні також часто для виготовлення біодизелю використовують насіння соняшнику, адже соняшник широко вирощується на наших полях і має високий відсоток олії, а Україна є одним з найбільших експортерів соняшникової олії в світі. Тим не менш це не завжди є економічно вигідно, адже за останні роки ціни на соняшникову олію зростають відповідно до цін на нафту і такий спосіб отримання біодизелю не є рентабельним без підтримки з боку держави [16].

Крім того, питання ефективності і землевідведення під технічні і продовольчі культури залишаються спірними, оскільки технічні культури можуть займати землі, які могли б були використані для насадки харчових культур [14].

Інколи як сировину для виготовлення біодизелю використовують відходи тваринних підприємств, як ось жирова тканина.

### **1.3. Мікробіодорості як перспективна сировина**

Найбільш перспективною сировиною для створення біодизелю є одноклітинні мікробіодорості. Мікробіодорості – це універсальні організми, які не мають справжньої кореневої системи або листя. Вони не містять лігніну і целюлози, що покращує процес перетворення сировини на біопаливо. Мікробіодорості можна використовувати для виробництва метану шляхом анаеробного зброджування або етанолу шляхом бродіння [10]. Вони можуть розвиватись у складних агрокліматичних умовах і продукувати цілу низку

корисних продуктів: жири, білки, вуглеводи, барвники, біологічно активні сполуки та ін. Ефективність запасання сонячної енергії мікроводоростями вище від усіх вищих рослин.

Також на відміну від традиційних енергетичних культур, мікроводорості є дуже економічними - вони споживають менше води та не потребують добрив. Мікроводорості здатні подвоювати кількість біомаси кожні 40 годин, що дозволяє проводити збір біомаси з невеликими інтервалами, коли вищі рослини потребують значної кількості часу щоб дозріти. Однак найголовнішою перевагою мікроводоростей є високий склад можливого вмісту ліпідів в них.

Деякі штами здатні набирати до 80-95% вмісту ліпідів у клітинах, на відміну від ріпака (38-45%), сої (13-26%) та соняшнику (33-60%). Тим не менш у культивуванні мікроводоростей є свої недоліки, як, наприклад, великий вміст вологи у клітинах [2].

Процес продукування біодизелю з мікроводорості можна розділити на декілька послідовних етапів:

- Культивація мікроводоростей: вирощування певного штаму мікроводорості в відкритих чи закритих культивувальних системах (ставках чи фотобіореакторах) за певних кліматичних параметрів.
- Збір врожаю: отримання та підготовка водорослевої біомаси до обробки. Даний етап є дуже складним оскільки при зборі біомаси втрачається найбільша кількість сировини (20-30%). Також після збору мікроводоростей їх потрібно зневоднити.
- Екстракція ліпідів та їх очищення від домішок (промивка). Даний етап є найдорожчим, тому в основному цей етап і встановлює кінцеву ціну на біодизельне паливо.
- Процес переестерифікації, який включає в себе додавання до реактору каталізатору, метанолу або етанолу та очищеної олії, підігрів та перемішування суміші до повного закінчення реакції.
- Очищення біодизелю від домішок: після переестерифікації біодизель

потрібно промити від побічних продуктів за допомогою розчинів.

Отриманий на виході біодизель при дотриманні всіх стандартів виробництва може бути використаний відразу [2].

Правильне культивування мікроводоростей це важливий фактор для отримання якісного біопалива у великих кількостях. Вибір культивувальних систем базується на швидкості зростання водорості, загальному розмірі врожаю та інших факторах.

Відкриті системи культивування представляють з себе ставки, в яких відбувається вирощування водорості просто неба. Плюсами таких систем є використання вуглекислого газу прямо з повітря. Існує декілька різних конфігурацій такої культивувальної інфраструктури яку використовують в наукових та індустріальних цілях:

- Ставки у формі гоночного треку
- Круглі басейни
- Неглибокі ставки
- Закриті ставки

Для відкритих культивувальних систем дуже велике значення має їх географічне розположення. Мікроводорість має отримувати достатню кількість сонячного світла, температура має бути сталою, без різких змін. В круглих басейнах часто вирощують *Chlorella* sp., перемішуючи середовище спеціальними механізмами посередині ставка. Ставки у формі гоночного треку ж є довгими замкнутими водними каналами, по яким циркулює поживне середовище. Найрозповсюдженішим матеріалом для відкритих ставків є звичайний бетон. В Україні створення відкритих ставків є неможливим через сильні сезонні зміни температур, особливо на півдні та заході країни. Найбільшим недоліком відкритих ставків окрім сильної залежності від географічного положення є великі втрати води через випарювання.

Закриті культивувальні системи (фотобіореактори) - це дуже добре налагоджені, часто автоматичні, системи підтримання сталих кліматичних

умов для вирощування мікроводоростей всередині контрольованого середовища. Зазвичай ці фотобіореактори конструюють так, щоб збільшити кількість вільного сонячного світла, що потрапляє в систему. Одним з плюсів таких систем є добра система перемішування біомаси для максимізації обміну газів та рівномірного потрапляння світла до мікроводоростей. Фотобіореактори вирішують більшість проблем відкритих систем культивування одноклітинних водоростей, до того ж існує велика кількість різних варіацій їх дизайнів та конфігурацій залежно від їхньої форми та конструкції. Вони можуть представляти з себе як мішки з синтетичних матеріалів, вертикальні башні, пластини або труби зроблені з прозорого пластику, або скла. Найбільш ефективними на даний момент є системи з прозорих трубок, по яким проходить поживне середовище, але ідеальний дизайн для культивування мікроводорості ще не знайдений. Велике значення має очищення середовища від надлишків кисню, оскільки його надлишок може негативно впливати на швидкість росту водоростей [9].

Дуже велике значення має вибір самого штаму культивованих мікроводоростей. Доволі ефективними рахуються наступні штами: *Picochlorum* sp., *Nannochloropsis oculata*, *Phaodactylum tricornutum*, *Amphidinium* sp. [11], *N. coffeaeformis*, *Navicula cincta*, *N. gregaria* [12]. На даний момент проводять багато наукових досліджень, щоб знайти найкращі штами для культивування в промислових, багатотонажних масштабах. Часто прибігають до генетичної маніпуляції над ціанобактеріями, геном яких досить відомий, для того щоб збільшити вихід олії [17].

На етапі збору біомаси потрібно підібрати найбільш рентабельну технологію збору для максимального вилучення біомаси з середовища для багатотонажного виробництва мікроводоростей. Популярними є: центрифугування, фільтрація, седиментація, флокуляція та флотація. Вибір методу залежить від розмірів клітини, густини середовища, щільності розположення клітин, об'ємів біомаси. Також слід зазначити що на цій стадії формується значна частина собівартості палива, тому важливо вибирати

найефективніші рішення, за найменшим капіталовкладенням [2]. Відразу після збору матеріалу його потрібно зневоднити. Кількість вологи в вихідній біомасі впливає на кінцеву якість біодизелю, тому до цього потрібно поставитись не менш серйозно [6]. Порівняно з насінням олійних культур, біомаса мікродоростей має в своєму складі набагато більше води, що несе за собою більші енергетичні втрати при підготовці сировини до екстракції. Зазвичай ефективність видалення олій зі зневодненої маси складає близько 90% [2].

Є три основних методи очищення ліпідів від сторонньої біомаси мікродоростей: пресування, екстракція органічними розчинниками та екстракція рідиною у суперкритичному стані.

Пресування базується на процесі механічного стиснення біомаси і відділенні таким чином ліпідів від відходів. В залежності від температурного стану розрізняють гаряче та холодне пресування. При гарячому пресуванні сировина піддається попередньому підігріву. В такому випадку олія може зберігатися довше, однак частіше при виготовленні біодизелю використовують холодне пресування, оскільки те є менш енергозатратним, хоча і термін зберігання олії в такому випадку менший.

При екстракції органічними розчинниками частіше за все використовують бензол, ефір або гексан, харчові бензини. Екстракцію проводять шляхом багаторазових промивань біомаси розчинником при температурі рівній його кипінню. Після основної промивки можуть використовувати циклогексан, щоб промити залишки.

Часто використовують обидва методи у комбінації, щоб досягнути максимально можливого вилучення ліпідів із сировини[2]. На першому етапі обробки використовується метод пресування, а на другому - залишок біомаси змішують з гексаном. Пізніше фільтрують та очищують дану суміш для видалення всіх залишків гексану із ліпідної маси.

Інколи використовується метод надкритичної рідини, який дозволяє вилучити до 100% ліпідів з біомаси водоростей. Метод включає в себе

стискання вуглекислого газу з його підігрівом до супер критичного стану на межі рідкої та газоподібної фази, після цього в камеру додається біомаса водоростей, які повністю перетворюються на олію. Не дивлячись на високий відсоток екстракції цей метод рахується найменш популярним [10].

Базовими технологіями проведення переестерифікації є:

- Циклічна з використанням лужних каталізаторів
- Безкаталізаторна циклічна (із застосуванням розчинників, зазвичай, тетрагідрофурану)
- Багатореакторна безперервна

Їхній вибір залежить від потрібних обсягів виробництва, виду вихідної сировини та її якості, способів очищення від спиртів і каталізатора. За обсягів виробництва біодизельного палива від 500 до 5000 т/рік, зокрема на заводах, що працюють із сировиною невисокої якості, кращою є проста циклічна технологія з використанням каталізаторів. Для великих обсягів виробництва (понад 5 тис. т біодизелю на рік) слід обирати багатореакторну безперервну технологію, що висуває суворіші вимоги до якості вихідної сировини [18].

Після збору очищену суміш ліпідів, зазвичай, передчасно нагрівають до потрібної температури, для протікання процесу переестерифікації, та подають у реактор. Одночасно з ліпідною масою в реактор додають каталізатор та еквімолярну масу вибраного абсолютизованого спирту (метанолу, етанолу, т. п.). Оскільки найменші залишки води в спирті можуть вплинути на якість проходження реакції, потрібно вибирати 100%, або майже 100% спирт. Абсолютно чистий спирт, без домішок води добути дуже складно. Для абсолютизації спирту його кип'ятять із кальцій оксидом, який хімічно сполучається з водою й утворює кальцій гідроксид. Але під час зберігання на повітрі абсолютний етанол дуже швидко поглинає воду з повітря до вмісту її 4,4 %. Каталізатор представляє собою гідроксид калію, який додають масою приблизно 1% від маси олії до спирту, розчиняючи його в абсолютному спирті.

При реагуванні зі спиртом та каталізатором, ліпіди пройдуть реакцію

переестерифікації, яка заключається в обміні залишками жирних кислот між триацилгліцеролом та вибраним спиртом, утворюючи естери та побічний продукт - гліцерин. Суміш в реакторі потрібно активно перемішувати, часто для цього використовують кавітаційні методи, для створення однорідної суміші ліпідів з каталізатором розчиненому у спирті, та підігрівати до заданої температури. Реакція не завжди проходить успішно, оскільки існує декілька факторів перешкоджаючих цьому.

Надлишок води, або вільних жирних кислот може призвести до утворення калієвого мила, що сильно впливає на якість кінцевого продукту. Якщо вода в олії присутня у значних кількостях, то в умовах високих температур, замість реакції переестерифікації, може відбутись реакція гідролізу триацилгліцеролу в дигліцерид та вільну жирну кислоту, що теж приводить до утворення великої кількості мила, що зв'язує розчин в гелі, які потім неможливо розділити на біодизель та гліцерид.

Таким чином при ідеальному проходжені реакції процес переестерифікації має бути одностороннім та необерненим. На кінцевій стадії проведення реакції до реагентів додається надлишок спирту, для остаточного перетворення ліпідів на естери.

Поряд з триацилгліцеридами в суміші реагентів можуть знаходитись моно- і тригліцериди, надлишок спирту, гліцерин, залишковий каталізатор. Всі ці речовини забруднюють кінцевий продукт, а тому їх потрібно розділити від основної суміші.

Після розшарування і розділення суміші на фракції, сирій біодизель потрібно промити водою, до якої часто додають невелику кількість сірчаної кислоти, або повареної солі. Промивання підкисленою водою, окрім очищення, забезпечує нейтральну реакцію кінцевого продукту, що позитивно скасується на його роботу в невідготовлених двигунах, зменшуючи руйнування структурних матеріалів механізмів. На кінцевих стадіях очистки воду та спирт висушують у ректифікаційній колоні. Так в кінцевому продукті не має залишатись води, спирту, мила, поверхнево-активних речовин,

гліцерину. Вже готовий продукт часто додатково пропускають через фільтри для відбору механічних домішок [6].

Після останньої фільтрації біодизель з фільтрів зазвичай попадає у спеціальні резервуари, де вже може використовуватись у звичайних дизельних двигунах.

## РОЗДІЛ 2.

### МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

#### 2.1. Матеріали дослідження

Матеріалом дослідження слугувала культура *Nostoc linckia* (Bornet ex Bornet et Flahault, 1886) [28] вирощена в умовах фотобіореактора на середовищі мінімального мінерального складу (артезіанська вода) (рис. 2.1).

*Nostoc linckia* - це вид здатних до азотфіксації ціанобактерій, які утворюють нитчасті структури. Є абсолютно не токсичною, швидко нарощує біомасу та не потребує складних пост-культивуаційних методів сепарації від середовища.



**Рис. 2.1 *Nostoc linckia* (мікроскоп MICROmed XS-2610 окуляр x10, об'єктив x100)**

Вирощування культури водоростей тривало 21 добу, після чого біомасу відділяли від фугату фільтруванням через планктонну сітку. Біомасу використовували для отримання біодизелю. У підготовці до екстракції біомаса була висушена у алюмінієвих бюксах у сушильній шафі за температури  $\sim 110^{\circ}\text{C}$  на протязі 1-2 годин до повної втрати вологи.

## 2.2. Схема отримання біодизелю

Класична схема отримання біодизелю із рослинної сировини включає наступні етапи: екстракція ліпідів, етапи рафінування, етерифікація, очищення, отримання товарної форми (рис. 2.2).

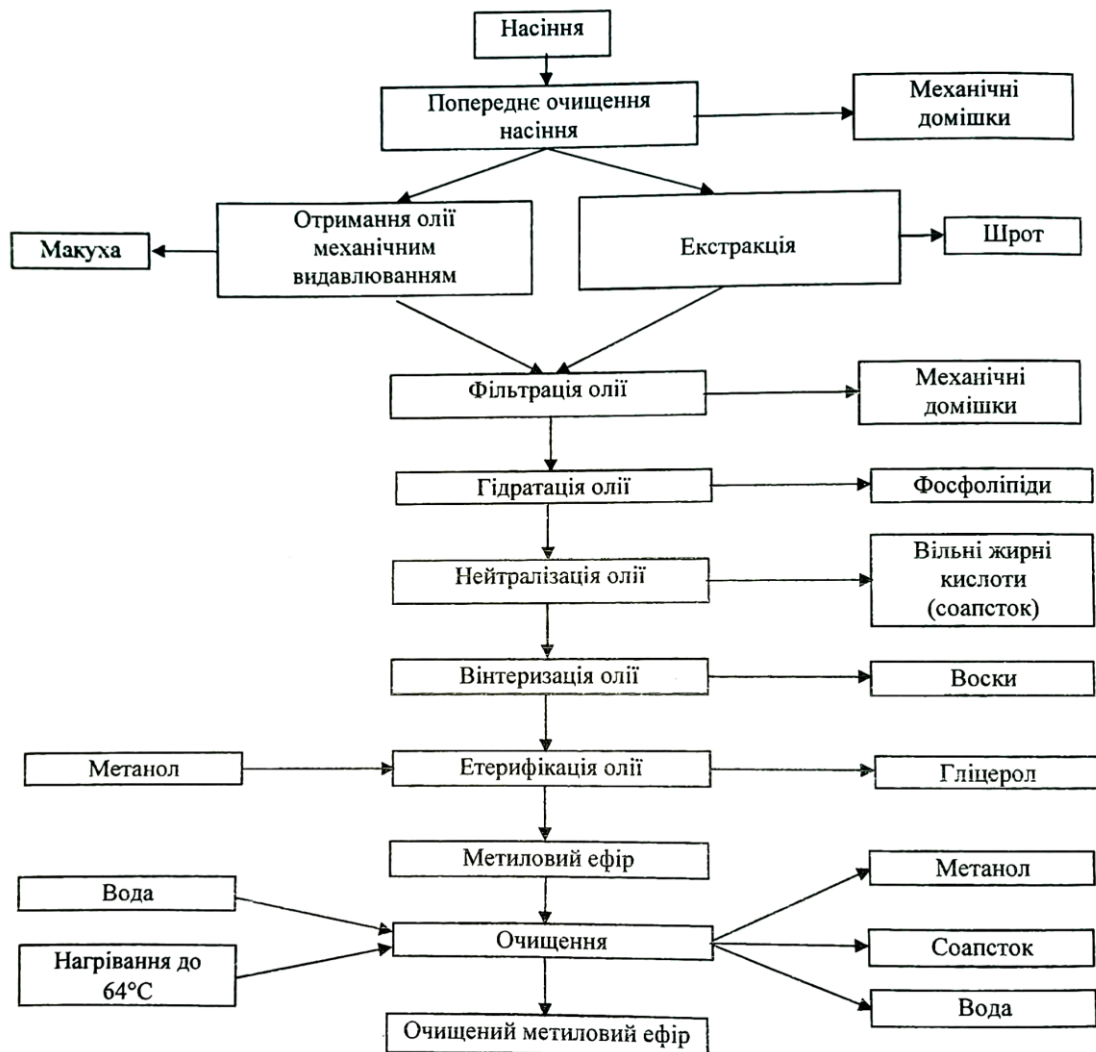


Рис. 2.2 Схема виготовлення біодизелю [23]

В залежності від виду використаної сировини кількість етапів та їх параметри будуть змінюватися. Критичними є вибір екстрагента, гідратація, нейтралізація олії та вінтеризація за наявності восків.

**Екстракція ліпідів.** Для екстракції триацилгліцеролів класично використовують суміш полярних та неполярних розчинників. Зазвичай співвідношення полярних та неполярних розчинників складає 2 : 1 [19]. В якості полярних розчинників нами використано бутанол та 5% розчин NaCl, в якості неполярних розчинників – етилацетат та петролейний ефір.

Бутанол - спирт бутану, який широко використовується як в харчовій сфері так і промисловості, як харчова добавка, або розчинник.

Петролейний ефір - суміш легких насичених вуглеводнів безбарвного кольору, які добувають з попутних нафтових газів та легких фракцій нафти. Слугує неполярним органічним розчинником.

Етилацетат - широко розповсюджений органічний розчинник ряду катерів. Часто використовуються в промисловості через низьку ціну та токсичність. Є безбарвною рідиною.

Екстрагування ліпідів з висушеної біомаси проводили шляхом мацерації на протязі 72 годин з використанням дослідних сумішей екстрагентів. Після екстракції фракція полярного розчинника була видалена.

**Рафінування.** Для фільтрації олії використовували паперовий фільтр. Гідратування проводиться за наявності фосфоліпідів. Перед проведенням етапу нейтралізація проводили вимірювання кислотного числа олії. Кількість лугу для нейтралізації розраховували по відношенню до кислотного числа. Вінтеризацію олії проводили проводили виморожування у побутовому холодильнику при температурі 4°C. При наявності осаду проводили фільтрування.

**Етерифікація.** Для проведення процесу лужної етерифікації олія підігрівається з додаванням спирту за наявності лугу як каталізатору.

**Очищення.** Етап очищення передбачає сепарування від гліцеролу та відділення від соапстоку (гелеподібна суміш мила та води) [23].

### 2.3. Методи дослідження

**Визначення кількості загальних ліпідів.** Визначення кількості загальних ліпідів проводили за фотоелектроколориметричним методом із використанням фосфованілінового реактиву. Суть методу заключається в кольоровій реакції фосфованілінового реактиву з продуктами розпаду ліпідів та подальшим визначенням оптичної густини при 540 нм відносно контролю та калібрувальної кривої.

**Визначення загального фосфору.** Визначення загального фосфору було проведено за стандартною методикою ДСТУ 7082:2009. Суть методу заключається в мінералізації дослідної проби з оксидом магнію сухим озоленням у муфельній печі задля подальшого промивання ацетоном та визначення фосфоровмісних речовин ваговим методом [29].

**Визначення числа омилення олії.** Числом омилення є кількість міліграмів їдкого калію необхідного для нейтралізації речовин кислої природи, які утворюються при повному гідролізі складних ефірів у перерахунку на 1 г сировини. Досліджувану пробу кип'ятять в присутності їдкого калію протягом 1 години для проведення процесу омилення, після чого титрують розчином 0,5М хлористоводневої кислоти до обезбарвлення фенолфталеїну. Число омилення вираховують за формулою відносно об'єму кислоти, яка була необхідна для знебарвлення розчину та контрольної проби [24].

**Визначення кислотного числа олії.** Кислотним числом є кількість міліграмів їдкого натрію, які є необхідні для нейтралізації вільних кислот у 1 г дослідної речовини. Об'єм 0,1М NaOH необхідний для нейтралізації проби визначають методом титрування до забарвлення фенолфталеїну, що не зникає протягом 30 с. Кислотне число вираховують за формулою [24].

## 2.4. Статистичний аналіз результатів

Дослідження проводились у трьох повторях ( $n = 3$ ). Отримані результати у вигляді чисел, таблиць та графіків подані, як середні значення  $M$  з відхиленням  $m$  ( $M \pm m$ ).

Статистичну обробку вказаних результатів проводили за загальноприйнятими методами у Microsoft Excel. Відмінності отриманих результатів вірогідні при рівні значимості  $p \leq 0,05$  за критерієм Ст'юдента.

## РОЗДІЛ 3.

### РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

#### 3.1. Оптимізація процесу екстракції

Мікрководорості є перспективним напрямом розвитку біотехнологій через ряд їх унікальних параметрів. Вони не потребують мінеральних добрив, додаткових поживних речовин, можуть швидко нарощувати біомасу та можуть бути використані для накопичення різних органічних речовин, в тому числі ліпідів, що робить їх перспективним варіантом сировини, що може бути використаний для отримання біодизелю [25].

Біодизель - головний конкурент традиційному дизельному пальному, основний тип рідкого біопалива. Основний метод виготовлення біодизелю - шляхом естерифікації ліпідів з використанням лугу, як каталізатору (лужна етерифікація) [26].

Олія, з якої можливе виготовлення біодизелю високої якості, та яка є придатною до проходження процесу етерифікації, отримується методами екстракції або механічним видавлюванням та проходженням етапу рафінування. Етап екстракції напряму впливає на вихід ліпідів із сировини, а отже й кількість кінцевого продукту. Оптимізація етапу екстракції грає важливу роль для отримання біодизелю. На протязі тривалого часу відбуваються пошуки оптимальних розчинників, або їх сумішей, що не лише сприяли би високій ефективності екстракції, але були б не токсичні для людини та екології, мали низьку ціну, були зручні у використанні та не пошкоджували обладнання. Тому дослідження в даній сфері будуть продовжуватись поки не буде знайдено екстрагенту, який би повністю задовольняв даним критеріям.

Для дослідження біомаса *Nostoc linckia* була нарощена у фотобіореакторі використовуючи середовище мінімального мінерального складу (воді артезіанській) (рис. 3.1).

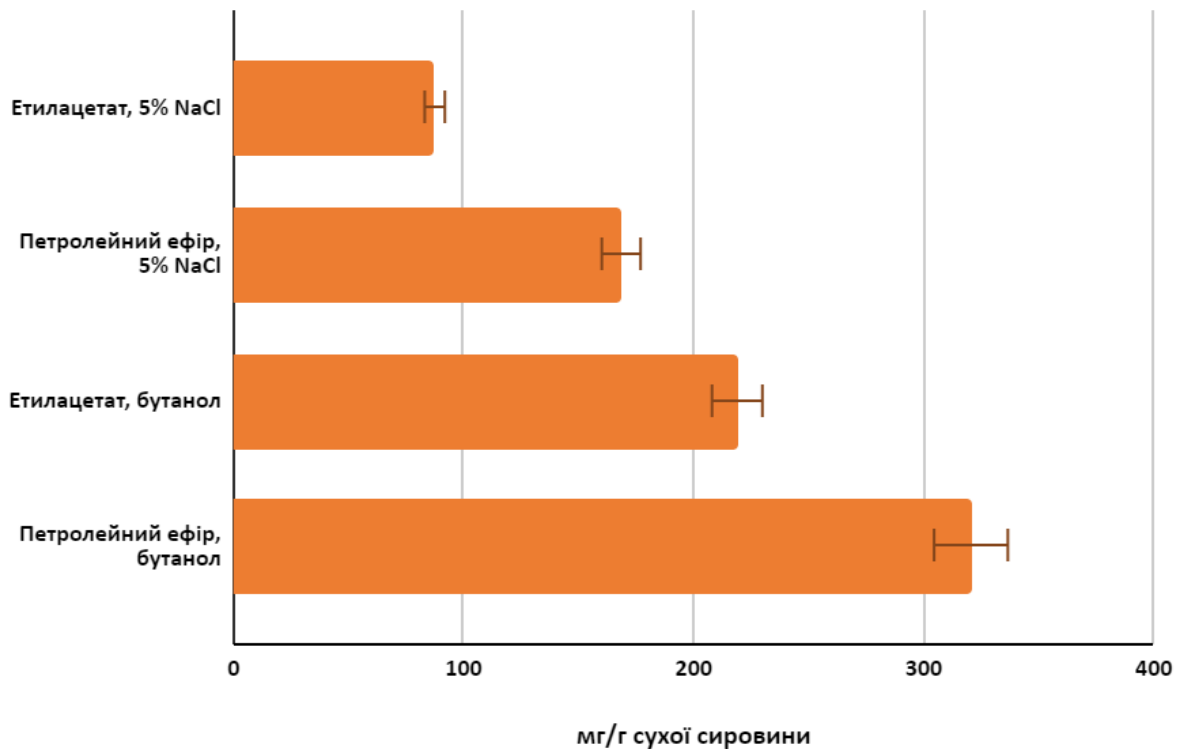


**Рис. 3.1. Біомаса *N. linckia* отримана при вирощуванні в фотобіореакторі**

Нарощена біомаса піддалась екстракції шляхом мацерації з використанням дослідних систем екстрагентів:

- петролейний ефір : бутанол (1 : 2);
- етилацетат : бутанол (1 : 2);
- петролейний ефір : 5% NaCl (1 : 2);
- етилацетат : 5% NaCl (1 : 2);

Отримані екстракти процентрифугували для відділення механічних домішок та перевіряли на вміст загальних ліпідів. Результати визначення концентрації ліпідів порівняли з ціллю визначення найбільш продуктивної системи розчинників (рис. 3.2).



**Рис. 3.2. Кількість загальних ліпідів із біомаси *N. linckia* при використанні різних систем розчинників ( $M \pm m, n = 3$ )**

Під час екстрагування ліпідів, з використанням дослідних систем розчинників, з біомаси *Nostoc linckia*, найбільший вміст ненасичених ліпідів було отримано при використанні системи петролейний ефір : бутанол (1 : 2). Вміст ліпідів було вираховано на рівні 320,5 мг\г сухої сировини. В якості полярного компонента системи розчинників більш продуктивним виявився бутанол, суміші з його використанням мали більшу концентрацію ліпідів відповідно тих, що використовували 5% NaCl. Найпродуктивнішим неполярним компонентом в свою чергу виявився петролейний ефір. В нормі масова частка ліпідів в даному виді мікродоростей складає близько 20% [20][22], але може змінюватись в залежності від умов культивування. Вирощування мікродорості на збідненому живильному середовищі може збільшувати відсоток накопичення ліпідів у клітинах.

Необхідним є звернути увагу на економічний аспект обраних екстрагентів. В залежності від їх вартості актуальність певних екстрагентів

може різнитись. Для порівняння продуктивності екстрагування ліпідів до їх економічної доцільності нами було розраховано вартість використаних систем розчинників у перерахунку на 1 л (табл. 3.1).

**Таблиця 3.1.**

**Порівняльна вартість систем розчинників застосованих для екстракції ліпідів *N. linckia***

Система розчинників	Вартість, грн/л
Петролейний ефір, бутанол	190
Етилацетат, бутанол	116
Петролейний ефір, 5% NaCl	136
Етилацетат, 5% NaCl	63

Найбільшу ефективність екстракції показала суміш петролейного ефіру та бутанолу, 32,05% маси отриманої суміші склали ліпіди, але у свою чергу ця суміш виявилась і найдорожчою з ціною 190 грн\л. Другою по ефективності виявилась суміш етилацетату з бутанолом, 21,89% - 116 грн\л. Що стосується сумішей, де в якості одного з розчинників використовувався водний розчин 5% NaCl, то вони показали гірші результати. Суміш петролейного ефіру з 5% NaCl не лише виявила нижчу ефективність екстракції від суміші етилацетату з бутанолом, але й має вищу вартість, що робить використання даної суміші недоцільним. Щодо етилацетату з 5% NaCl то дана суміш виявила найменший відсоток екстракції ліпідів, але й має найменшу ціну з усіх дослідних сумішей, тим не менш використання даної суміші в якості екстрагенту також не є доцільним, адже суміші в складі яких присутній бутанол показали вищий вихід ліпідів у перерахунку на грошову одиницю.

За результатами етапу екстракції можна зробити декілька висновків: використання 5% NaCl в якості полярного компонента екстрагенту не є

доцільним, бутанол виявився більш ефективний в усіх аспектах; суміші в яких присутній петролейний ефір вказують більший відсоток екстракції ліпідів, від тих, в яких був використаний етилацетат; усі обрані нами розчинники є менш токсичними від тих, що використовуються у класичній методиці Блая і Дайера, а саме хлороформ та метанол. Ми рекомендуємо для отримання біодизелю з *N. linckia* використовувати систему розчинників петролейний ефір : бутанол (2 : 1).

### 3.2. Оптимізація процесу рафінування

Оптимізація рафінування має на меті вилучити етапи, що були б неактуальними у разі використання як сировини біомаси мікрободоростей. Рафінування забезпечить високу якість кінцевого продукту, відсутність механічних та небажаних хімічних домішок, що можуть впливати на роботу паливної системи, фільтрів, двигуна та інших систем.

Рафінуванню піддавали отриманий екстракт з використанням системи розчинників петролейний ефір : бутанол (2 : 1).

Процес рафінування включає декілька етапів: фільтрування, гідратування, нейтралізація, вінтеризація. Наявність всіх етапів буде залежати від якісних та кількісних параметрів екстракту.

Фільтрацію проводили класичну в використанням паперових фільтрів. Наступним етапом був процес гідратації - вилучення гідрофільних домішок (фосфоліпідів, білків, вуглеводів) [27]. Визначальним для проведення етапу гідратування є наявність та кількість фосфоліпідів у екстракті.

Визначення фосфоліпідів здійснюють за арбітражною методикою та порівнюють зі стандартом. За стандартом при виробництві біодизелю частка фосфоліпідів не повинна перевищувати 10 ppm (табл. 3.2).

Таблиця 3.2.

Вміст фосфоліпідів у екстракті *N. linckia* $(M \pm m, n = 3)$ 

Кількість фосфоліпідів	Арбітражні значення	Дослідні значення
	10 ppm	$6,43 \pm 0,31$ ppm

В зв'язку з невисокою кількістю фосфоліпідів процес гідратації було вирішено пропустити, оскільки його результатом є відділення надлишку фосфоліпідів.

Для проведення наступного етапу – нейтралізації – попередньо потрібно провести визначення рН, кислотного числа та числа омилення. Нейтралізація - це видалення вільних жирних кислот і речовин кислої природи. За отриманими результатами ми визначали кількість луку необхідного для нейтралізації (табл. 3.3).

Таблиця 3.3.

Параметри екстракту *N. linckia* перед початком нейтралізації $(M \pm m, n = 3)$ 

Параметри	Значення
рН	$6,13 \pm 0,043$
Число омилення	$536,06 \pm 41,11$
Кислотне число	$31,77 \pm 2,02$

Виходячи з отриманих результатів нами було розраховано кількість луку для проведення етапу нейтралізації. Відомо, що з цією метою можна використовувати КОН або NaOH. Враховуючи вартість реагентів та молярну

масу для приготування вихідного розчину нами було обрано для нейтралізації NaOH.

25 мл екстракту з масою 18 г потребували для нейтралізації 5 мл 3М NaOH. В процесі нейтралізації відбувається утворення мила (соапстоку) гелеподібної консистенції. Додавання водного розчину луку дозволило поєднати два етапи нейтралізації та промивання олії, тобто видалити з екстракту соапсток, що залишився після нейтралізації. Після даного етапу ми повторно провели визначення рН, кислотного числа та числа омилення (табл. 3.4).

Видалення жирних та інших кислот в процесі нейтралізації призвело до зниження кислотного та числа омилення в екстракті ліпідів *N. linckia*.

**Таблиця 3.4.**

**Параметри екстракту *N. linckia* після проведення нейтралізації**  
( $M \pm m, n = 3$ )

Параметри	Значення
рН	$9,36 \pm 0,18$
Число омилення	$92,5 \pm 4,3$
Кислотне число	$0,689 \pm 0,0276$

Слідуючим етапом є вінтеризація - видалення восків. Наявність восків у біодизелі призводить до забивання фільтрувальних елементів паливної апаратури автомобіля при його роботі, через що наявність воску у біодизелі не допускається. Зазвичай вінтеризація проводиться шляхом виморожування екстракту при температурі  $-12 - +8^{\circ}\text{C}$  до появи кристаликів воску, після чого температуру піднімають до  $+20^{\circ}\text{C}$  для збільшення розмірів кристалів та полегшеного фільтрування [23]. Ми здійснили виморожування при  $+4^{\circ}\text{C}$  в умовах побутового холодильнику. Осад був практично відсутній, тим не менш

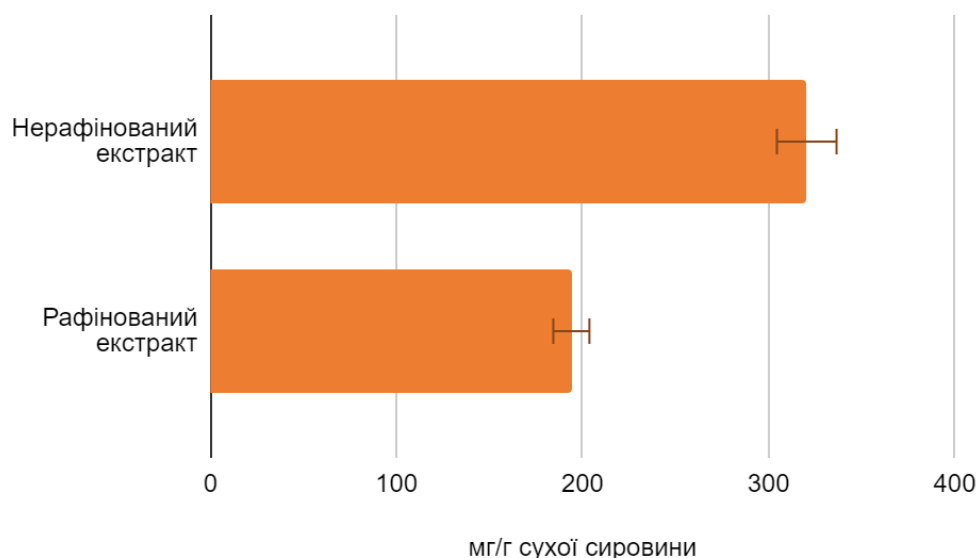
для його остаточного виділення було проведено додаткове фільтрування.

По закінченню всіх етапів рафінування, був отриманий прозорий очищений екстракт ліпідів *N. linckia*, вільний від речовин, що можуть знижувати товарну цінність кінцевого продукту (рис. 3.3).



**Рис. 3.3. Екстракт *N. linckia* після процесу рафінування**

У рафінованому екстракті провели визначення загальних ліпідів. Отримані значення порівняли з вмістом ліпідів у екстракті до етапу рафінування (рис. 3.4).



**Рис. 3.4. Порівняння кількості загальних ліпідів із біомаси *N. linckia* до та після рафінування ( $M \pm m, n = 3$ )**

Після етапу рафінування в екстракті було визначено нижчу концентрацію ліпідів, порівняно з їх концентрацією до проведення даного етапу. Це може бути пов'язано з видаленням вільних жирних кислот на етапі нейтралізації, а також зі здатністю соапстоку механічно захоплювати певну кількість нейтральної олії. Вміст жирів у соапстоці може сягати 30% (20% у вигляді механічного захопленої нейтралізованої олії та 10% у вигляді мила) [23].

Останнім етапом стала концентрація екстракту шляхом вакуумного випаровування екстрагентів з метою отримання чистих ліпідів (рис. 3.5).



**Рис. 3.5.** Сконцентрований екстракт із біомаси *N. linckia*

Отже, нами була оптимізована схема отримання біодизелю із біомаси *N. linckia*. Вона включає наступні етапи: екстракцію з використанням системи екстрагентів петролейний ефір : бутанол (1 : 2); фільтрування екстракту; гідратування в залежності від кількості фосфоліпідів; нейтралізація в залежності від кислотного числа; вінтеризація в разі присутності осаду при виморожуванні. Залучена схема дозволяє отримати очищені ліпіди (прекурсор біодизелю) із біомаси *N. linckia*, що складають 19,4% від сухої маси сировини.

## ВИСНОВКИ

1. При екстрагуванні ліпідів із біомаси *N. linckia* найпродуктивнішою та найефективнішою виявилась система екстрагентів петролейний ефір : бутанол (1 : 2). Вихід ліпідів у нерафінованому екстракті склав 32,05% у перерахунку на суху масу сировини.
2. Оптимізована схема рафінування ліпідів із біомаси *N. linckia* включає наступні обов'язкові процедури: фільтрування, нейтралізацію, вінтеризацію.
3. Біомаса *N. linckia* є перспективною сировиною для отримання біодизелю. Оптимізована методика дозволяє отримати очищені ліпіди у кількості 19,4% від сухої маси сировини.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Друкований, М. Ф., Бандура, В. М., Друкована, А. О. (2008). Нова технологія виробництва біодизелю. *Вібрації в техніці та технологіях*. 3 (52), 69-73.
2. Біоенергетика: Курс лекцій. Частина 1 [Електронний ресурс] : навч. посіб. для студ. спеціальності 141 «Електроенергетика, електротехніка та електромеханіка» / КПІ ім. Ігоря Сікорського ; уклад.: М. О. Будько. – Київ : КПІ ім. Ігоря Сікорського, 2021. – 109 с.
3. Відновлювана енергетика. *Державне агентство з енергоефективності та енергозбереження України*.  
<https://saee.gov.ua/uk/activity/vidnovlyuvana-enerhetyka>
4. Калетнік, Г. М., Токарчук, Д. М. (2021). Ефективність вирощування енергетичних культур та їх переробки на біопаливо в контексті забезпечення енергетичної автономії аграрних підприємств. *Економіка, фінанси, менеджмент: актуальні питання науки і практики*. 1, 7-25.
5. Поляков, А. П., Галушак, О. О., Галушак, Д. О., Нгаяхи Аббе, К. В. (2012). Спосіб забезпечення необхідних техніко-економічних та експлуатаційних характеристик дизельного двигуна під час переведу його на роботу на біодизельному паливі. *Наукові праці ВНТУ*. 3.
6. Сухенко, Ю. Г., Сухенко, В. Ю., Марцинкевич, Л. В.. (2008). Технологічні особливості виробництва біодизельного пального з рослинних олій. *Харчова промисловість*. 6. 34-37.
7. Рібун, В. С., Курта, С. А., Громовий, Т. Ю., Хацевич, О. М. (2018). Удосконалення технології синтезу та властивості біодизельного палива. *Фізика і хімія твердого тіла*. 19 (3), 258-269.
8. Ezgi Sühel AKTAŞ, Özlem DEMİR, Deniz UÇAR. (2020). A review of the biodiesel sources and production methods. *International Journal of Energy and Smart Grid*. 5 (1). 1-11.
9. Tiwari, A., Kiran, T. (2018). Biofuels from Microalgae. *Intechopen*.

<https://www.intechopen.com/chapters/59007>

10. Шевчук, Г. В., Токарчук, Д. М. (2021). Біопаливо з водоростей як напрям розвитку “зеленої” економіки: сучасний стан та перспективи. *Економіка, фінанси, менеджмент: актуальні питання науки і практики*. 3, 21-36.
11. Muhammad, A. I., Marie Magnusson, Richard J. Brown etc. (2013). Microalgal species selection for biodiesel production based on fuel properties derived from fatty acid profiles. *Energies*. 6, 5677-5702.
12. Martín, L. A., Popovich, C. A., Damiani, M. C., Leonardi, P. I. (2020). A practical tool for selecting microalgal species for biodiesel production. *Journal of Renewable and Sustainable Energy*. 12. 063101.
13. (2021). Виробництво електроенергії в Україні за I півріччя 2021 року. *Всеукраїнська Енергетична Асамблея*. <https://uaea.com.ua/news/pek-news/power-generation-202106.html>
14. Лялько, В. І., Сахацький, О. І., Жолобак, Г. М., Ваколюк, М. В. (2012). Аерокосмічний контроль посівів озимого ріпаку - сировини для виробництва біодизелю. *Вісник Національної Академії Наук України*. 12, 13-22.
15. Мазур, О. В. (2012). Перспективи виробництва сої в Україні. *Сільськогосподарські науки*. 1, 57-61.
16. Демидов, І. М., Ситнік, Н. С., Мазаєва, В. С. (2014). Соняшник і проблема альтернативного палива в Україні. *Науково-технічний бюлетень Інституту олійних культур НААН*. 21. 137-146.
17. Samir B. Grama Zhiyuan Liu, Jian Li (2022). Emerging trends in genetic engineering of microalgae for commercial applications. *Marine drugs*. 20, 285.
18. Високоєфективні засоби приготування біопалива / О. Є. Колосов, Г. Л. Рябцев, В. І. Сівецький, Д. Е. Сідоров, С. О. Пристайлов. – К. : Січкара, 2010. – 152 с.
19. Cassandra Breil, Maryline Abert Vian. (2017). “Bligh and Dyer” and Folch

- Methods for Solid–Liquid–Liquid Extraction of Lipids from Microorganisms. Comprehension of Solvation Mechanisms and towards Substitution with Alternative Solvents. *National Library of Medicine*. 18(4), 708.
20. Cheban, L., Turianska, Y., Marchenko, M. (2020). Obtaining phycobiliprotein-containing *Nostoc linckia*(Roth.) Born. et Flah biomass via bioconversion of waste water from reticulating aquaculture systems (RAS). *Nova Biotechnol Chim*. 19 (2). 240-247.
21. Безрукавникова, Л. М., Вознесенская, Т. В., Купина, Л. М. (1991). Определение содержания липидов в ткани легких экспериментальных животных. *Гигиена и санитария*. (6), 89-90.
22. Турянська, Є. І., Чебан, Л. М. (2020). Біоконверсія скидної води з установки замкнутого водопостачання (УЗВ) задля отримання біомаси *Nostoc linckia* (Roth.) Born. et Flah. *Тези доповіді XXI Міжнародної науково-практичної конференції «Екологія. Людина. Суспільство», м. Київ. (21-22 травня 2020 р)*. 108-112.
23. Технологія виробництва біодизелю. Курс лекцій для студентів сільськогосподарських вищих навчальних закладів III-IV рівнів акредитації зі спеціальності 8.092900 - “Екобіотехнологія” / Національний університет біоресурсів і природокористування України Навчально-науковий інститут охорони природи і біотехнологій. Факультет екології і біотехнології. Кафедра біоконверсій та біотехсервісу.- К.: Інновац.-вид. центр “Холтех”, 2009 – 100 с.
24. Біологічно активні речовини рослин: методи вивчення: Методичний посібник / Николюк І. Д. – Чернівці: Рута, 2004 – 72 с.
25. Боднар, О. І. (2017). Біотехнологічні перспективи використання мікроводоростей: основні напрями (огляд). Тернопільський національний педагогічний університет імені Володимира Гнатюка. 1 (68). 138-146.

26. Оржель, О., Зоркін, А., Кикоть, К., Нечитайло, О., Регелюк, С. (2019). Регулювання виробництва рідких моторних біопалив. *Київ: Офіс ефективного регулювання*. 109.
27. Методичні вказівки до виконання лабораторних робіт з дисципліни «Технологія переробки рослинних жирів» для студентів III курсу денної форми навчання та IV курсу заочної форми навчання спеціальності 181 – Харчові технології, спеціалізації – Харчові технології та інженерія. Частина перша. Рафінація рослинних жирів. / Укл.: Т.Г. Філінська, О.В. Черваков, А.О. Філінська – Дніпро: ДВНЗ УДХТУ, 2016 – 52 с.
28. Bornet, É. & Flahault, C. (1886 '1888'). Revision des Nostocacées hétérocystées contenues dans les principaux herbiers de France (quatrième et dernier fragment). *Annales des Sciences Naturelles, Botanique, Septième Série 7*: 177-262.
29. ДСТУ 7082:2009. Методи визначання масової частки фосфоровмісних речовин. Київ. Держспоживстандарт України. 2010. Прийнято та надано чинності: наказ Держспоживстандарту України від 27 жовтня 2009 р. № 395.

## **ДОДАТКИ**

## Техніка безпеки в лабораторії біотехнологічного профілю

При проведенні робіт у біотехнологічній лабораторії потрібно ретельно дотримуватись вимог, наведених в інструкції з техніки безпеки. Якщо студент не ознайомлений з зазначеними вимогами, він повинен повідомити про це викладача.

Студент несе персональну відповідальність за власну безпеку під час виконання експериментальних робіт у лабораторії, що підтверджено його особистим підписом у журналі з техніки безпеки.

У лабораторію забороняється входити у верхньому одязі. Усі студенти повинні працювати в чистих бавовняних халатах, які мають бути застебнуті на всі гудзики. Волосся необхідно прибрати з обличчя та сховати під шапочку. У лабораторії кожен працює на постійному місці та виконує завдання індивідуально. На робочому місці потрібно підтримувати зразковий порядок.

Під час виконання лабораторної роботи категорично забороняється користуватися мобільними телефонами та залишати їх увімкненими. У лабораторії забороняється вживати їжу та напої.

До роботи у біотехнологічній лабораторії не допускаються студенти, які мають пошкодження на відкритих ділянках шкіри, не оброблені та не заклеєні бактерицидним пластиром.

Працюючи з відкритим полум'ям (газовий пальник, спиртівка), потрібно дотримуватися таких вимог: запалювати спиртівку та газовий пальник лише за допомогою сірника, гасити запалену спиртівку потрібно, закривши доступ повітря спеціальним ковпачком, а газовий пальник – перекриттям доступу газу. Розташовувати спиртівку потрібно на відстані не менш, ніж 20 см від краю робочого стола. У разі випадкового займання ватно-марлевого корка необхідно терміново загасити його, закривши доступ повітря.

Під час роботи з живими культурами мікроорганізмів необхідно слідкувати за наявністю запобіжних ватних тампонів у піпетках та ватномарлевих корків у пробірках. У випадку потрапляння мікробного матеріалу на відкриті ділянки шкіри, стіл чи підлогу це місце треба ретельно обробити дезінфікувальним розчином та ретельно промити водою.

Роботу у мікробіологічному боксі дозволено проводити лише за проходження додаткового інструктажу з техніки безпеки, наявності відповідного захисного одягу (халат, шапочка, захисна маска та захисні окуляри).

Категорично забороняється заходити у бокс за увімкненої бактерицидної лампи.

Всі предмети, використані у роботі з живими мікроорганізмами, мають бути знезаражені фламбуванням (петлі, голки), кип'ятінням (пробірки, чашки Петрі), обробленням дезінфікувальними розчинами (шпателі, піпетки, предметні й накривні скельця). Забороняється користуватися скляним посудом, що має сколи, тріщини, гострі краї.

У лабораторії необхідно дотримуватися обережності під час роботи з хімічними речовинами. При потребі (робота з концентрованими хімічними речовинами) потрібно використовувати засоби індивідуального захисту (рукавички, респіратори, гумовий фартух, захисні окуляри). У процесі розведення концентрованої кислоти необхідно кислоту вносити у розчинник, а не навпаки. У випадку потрапляння будь-яких хімічних речовин на шкіру необхідно змити реактив великою кількістю води; нейтралізувати кислоту необхідно слабким розчином соди, а луг – слабким розчином оцтової кислоти.

Роботу з концентрованими та леткими хімічними речовинами необхідно проводити під витяжною шафою.

Необхідно суворо дотримуватися вимог електробезпеки. Забороняється користуватися несправним електрообладнання і вмикати прилади без дозволу викладача або лаборанта, а також торкатися поверхні приладу мокрими руками.

Після закінчення роботи студент повинен упорядкувати робоче місце, руки необхідно ретельно вимити, а за потреби обробити дезінфікувальним розчином. Слід мати індивідуальний рушник або серветки для витирання рук.

**Публікації за темою дослідження**