



# НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ХАРЧОВИХ ТЕХНОЛОГІЙ

Інститут (факультет) Біотехнології та екологічного контролю

Кафедра Екології та екоменеджменту

Освітній ступінь магістр

Спеціальність 101 «Екологія»

(код і назва)

Освітньо-професійна програма «Екологія, екоменеджмент та екоаудит»

(назва)

**ЗАТВЕРДЖУЮ**

Завідувач кафедри Ігор ЯКИМЕНКО

« 30 » вересня 2024 року

## ЗАВДАННЯ НА КВАЛІФІКАЦІЙНУ РОБОТУ ЗДОБУВАЧА

Горбенко Ірини Сергіївни

(прізвище, ім'я, по батькові)

1. Тема роботи Використання ферментів дикорослої лутиги блискучої  
(*Atriplex sagittata*) для прискорення поглинання CO<sub>2</sub> з повітря  
керівник роботи Котинський Андрій Валерійович, кандидат технічних наук, доцент.  
( прізвище, ім'я, по батькові, науковий ступінь, вчене звання)

затверджені наказом закладу вищої освіти від “07” жовтня 2024 року №875кв

2. Строк подання здобувачем роботи 04 грудня 2024 р.

3. Вихідні дані до роботи: об'єкт дослідження з природного навколишнього  
середовища дикоросла рослина *Atriplex sagittata*, 20 мкг білку лутиги блискучої,  
термостабільність білку і досліджуваного ферменту при температурах від 0°C до  
40° С

4. Зміст пояснювальної записки (перелік питань, які потрібно розробити)

Вступ. Розділ 1. Проблема зміни клімату та впливу забруднень на повітряне  
середовище. Розділ 2. Об'єкти та методи дослідження. Розділ 3. Експериментальна  
частина. Висновки. Список використаних джерел

5. Перелік графічного матеріалу

## 6. Консультанти розділів роботи

Розділ	Прізвище, ініціали та посада консультанта	Підпис, дата	
		завдання видав	завдання прийняв

7. Дата видачі завдання \_\_\_\_\_ 30.09.2024 р.

## КАЛЕНДАРНИЙ ПЛАН

№	Назва етапів виконання кваліфікаційної роботи	Строк виконання етапів роботи	Примітка
1	Вступ	30.09.2024 - 02.10.2024	Виконано
2	Розділ 1. Проблема впливу зміни клімату та забруднень на повітряне середовище	03.10.2024 - 14.10.2024	Виконано
3	Розділ 2. Об'єкти та методи досліджень	15.10.2024 - 29.11.2024	Виконано
4	Розділ 3. Експериментальна частина	30.10.2024 - 26.11.2024	Виконано
5	Висновки	27.11.2024 - 28.11.2024	Виконано
6	Список використаних джерел	29.11.2024 - 30.11.2024	Виконано

**Здобувач**

\_\_\_\_\_ (підпис)

**Ірина ГОРБЕНКО**

\_\_\_\_\_ (ім'я та прізвище)

**Керівник роботи**

\_\_\_\_\_ (підпис)

**Андрій КОТИНСЬКИЙ**

\_\_\_\_\_ (ім'я та прізвище)

## АНОТАЦІЯ

Горбенко І.С. Використання ферментів дикорослої лутиги блискучої (*Atriplex sagittata*) для прискорення поглинання CO<sub>2</sub> з повітря – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Кваліфікаційна робота на здобуття освітнього ступеня магістра за спеціальністю 101 «Екологія» (ОПП «Екологія, екоменеджмент та екоаудит»). – Національний університет харчових технологій МОН України, Київ, 2024.

У кваліфікаційній роботі наведено результати досліджень секвестрації діоксиду карбону (CO<sub>2</sub>) за допомогою карбоангідрازی рослинного білка отриманого з дикорослої лутиги блискучої (*Atriplex sagittata*).

Також було здійснено визначення середньої кількості хлорофілів, каротиноїдів, оцінка ефективності очищення та перспективності використання для поглинання діоксид карбону.

### **Наукова новизна:**

1. Досліджено у листках роду *Atriplex* середній кількісний вміст пігментів та загального білку.

2. Встановлено, температурна залежність та рН середовище, які оптимальні для високої карбоангідразної активності, а також визначили, що при температурах від 0°C...40°C, при тривалому інкубуванні досліджуваних зразків, карбоангідразна активність зберігається. Отже, білковий препарат, який ізольований з листової фракції *A. sagittata*, може використовуватися для поглинання діоксиду вуглецю.

3. Визначено після проведення секвестрації діоксиду карбону оптимальний показник лужного балансу для рослинного білку лутиги блискучої, ефективність поглинання вставлена у діапазоні рН 8,5...рН 9,5.

**Практичне значення** - Отримані результати під час дослідження, можуть бути запропоновані до застосування у технологіях спрямованих з метою очищення і зменшення рівня діоксиду вуглецю в повітрі екосистем.

Ключові слова: ЗАБРУДНЕННЯ ПОВІТРЯНОГО СЕРЕДОВИЩА, ДІОКСИД КАРБОНУ, ЛУТИГА БЛИСКУЧА, КАРБОАНГІДРАЗА, СЕКВЕСТРАЦІЯ.

### Список публікацій

1. Горбенко, І.С.; Котинський, А.В. Оцінювання карбоангідразної активності у рослинного білка *Atriplex Sagittata*. *Біохімія та молекулярна біологія, Збірник наукових праць, XV Всеукраїнська науково-практична конференція «Біологічні дослідження – 2024»*, ЖДУ ім. І. Франка: Житомир, жовтня 8-9, 2024; с 70 -72.  
<http://eprints.zu.edu.ua/id/eprint/41501>

## ABSTRACT

*Horbenko I.S.* The use of enzymes from the wild-growing *Atriplex sagittata* to accelerate the absorption of CO<sub>2</sub> from the air - Qualification scientific work on the rights of the manuscript.

The qualification work for a master's degree in specialty 101 «Ecology» (EPP «Ecology, ecomanagement and ecoaudit») - National University of Food Technologies of the Ministry of Education and Science of Ukraine, Kyiv, 2024.

The qualification work presents the results of studies on the sequestration of carbon dioxide (CO<sub>2</sub>) using carbonic anhydrase of plant protein obtained from wild-growing *Atriplex sagittata*, an assessment of the purification efficiency and the prospects for use for CO<sub>2</sub> absorption.

A study was also the average amount of chlorophylls and carotenoids was determined, and the purification efficiency and prospects for use for CO<sub>2</sub> absorption were evaluated.

### **Scientific innovation:**

1. The quantitative content of pigments and total protein in the leaves of the genus *Atriplex* was investigated.

2. The temperature dependence and pH of the medium, which are optimal for high carbonic anhydrase activity, were determined, and it was also determined that at temperatures from 0°C...40°C, with prolonged incubation of the studied samples, carbonic anhydrase activity is preserved. The protein preparation isolated from the leaf fraction of *A. sagittata* can be used for carbon dioxide sequestration.

3. After carbon dioxide sequestration, the optimal alkaline balance for the plant protein of *A. sagittata* was determined, and the absorption efficiency was set in the range of pH 8.5...pH 9.5.

### **Practical significance:**

The results obtained during the study can be used in technologies aimed at reducing carbon dioxide levels for air purification in ecosystems.

Keywords: AIR POLLUTION, CARBON DIOXIDE, *ATRIPLEX SAGITTATA*, PHOTOSYNTHESIS, CARBONIC ANHYDRASE, SEQUESTRATION.

### List of publications of the applicant

1. Horbenko, I.S.; Kotynskyi, A. V. Assessment of carbonic anhydrase activity in the plant protein *Atriplex Sagittata*. Biochemistry and molecular biology, Collection of scientific papers, XV All-Ukrainian scientific and practical conference «Biological research – 2024», ZSU named after I. Franko: Zhytomyr, October, 8-9, 2024, pp. 70 -72.

## ЗМІСТ

### ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, СКОРОЧЕНЬ І

ТЕРМІНІВ.....	9
ВСТУП.....	10
РОЗДІЛ 1	
ПРОБЛЕМА ВПЛИВУ ЗМІНИ КЛІМАТУ ТА ЗАБРУДНЕНЬ НА ПОВІТРЯНЕ СЕРЕДОВИЩЕ.....	13
1.1 Негативний вплив збільшення діоксиду карбону для екосистеми .....	13
1.2 Аналіз основних антропогенних та природних джерел забруднення діоксидом вуглецю повітряного середовища.....	15
1.3 Сучасні методи зменшення рівня діоксиду карбону в повітрі.....	19
1.4 Потенціал застосування рослинних ферментів у процесі біофіксації діоксиду вуглецю.....	22
1.5 Характеристика та механізм дії ферменту карбоангідрази у вищих рослинах.....	26
РОЗДІЛ 2	
ОБ'ЄКТИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ.....	30
2.1 Характеристика рослинного об'єкту досліджень.....	30
2.2 Методи досліджень.....	35
2.2.1 Метод світлової мікроскопії.....	37
2.2.2 Методи кількісного визначення пігментів та загального білку.....	39
2.2.3 Метод виділення із дикорослої рослини фракції розчинних білків.....	40
2.2.4 Метод визначення рН середовищ.....	44
2.2.5 Методика визначення концентрації рослинного білка.....	44
2.2.6 Методика визначення карбоангідразної активності в рослинних сумарних білкових фракціях.....	45
2.2.7 Метод секвестрації діоксиду карбону ферментом з рослинних білкових фракцій.....	49

РОЗДІЛ 3	
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА.....	52
3.1 Дослідження будови та фотосинтетичний аналіз дикорослої рослини <i>Atriplex sagittata</i> .....	52
3.2 Дослідження поглинання діоксиду вуглецю за допомогою рослинної карбоангідрази у білковій фракції лутиги блискучої.....	53
ВИСНОВКИ.....	63
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	64
ДОДАТКИ.....	71
Додаток А.....	71

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СИМВОЛІВ, ОДИНИЦЬ,  
СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ**

<b>БАД</b>	Біологічно активні добавки
<b>БСА</b>	Бичачий сироватковий альбумін
<b>ВУАН</b>	Всеукраїнської академії наук
<b>ДМСО</b>	Диметилсульфоксид
<b>КА</b>	Карбоангідразна активність
<b>МКС</b>	Міжнародна космічна станція
<b>НАН</b>	Національна академія наук
<b>ПГ</b>	Парникові гази
<b>ТРИС</b>	Трис (гідроксиметил) амінометан-натрію хлорид (Tris-Sq ((НОСН <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> СNH <sub>2</sub> ))
<b>СО<sub>2</sub></b>	Карбон діоксид, діоксид вуглецю
<b>LULUCF</b>	Сектор «Землекористування, зміни у землекористуванні та лісове господарство»
<b>Mt</b>	Мільйон тон
<b>PPM</b>	Мільйонна частка <i>мКм</i>

## ВСТУП

Значне збільшення концентрації парникових газів в атмосфері, зокрема діоксиду карбону, метану та діоксид азоту, спричиняє підвищення рівня моря, викликаючи погіршення погодних явищ, створюючи сильні шторм, спеку та посухи, що сприяє глобальному потеплінню на планеті .

Основною причиною зміни клімату є викиди в атмосфері, діоксиду карбону ( $\text{CO}_2$ ). У результаті діяльності людини, постійні викиди, наприклад: від вирубки лісів, значно підвищують концентрацію  $\text{CO}_2$ , а сучасні масштаби та швидкість зміни клімату є безпрецедентними для планети. У минулому кліматичні зміни відбувалися поступово, протягом тисячоліть, здійснювалася адаптація екосистеми до нових умов. Однак сучасні зміни стрімко настають – це ускладнює видам та цілим екосистемам адаптаційний період, що призводить до зникнення деяких видів рослинної культури і загалом втрати біорізноманіття. Постійна зміна клімату, також негативно впливає на людей, загрожуючи продовольчій безпеці та призводять до економічних втрат для населення. <sup>1</sup>

Для поглинання діоксиду карбону розробляють різні методи, адже це глобальна кліматична світова проблема. У повітряному середовищі існуванні для різних живих організмів, існує нагальна потреба в стратегіях зменшення викидів, саме біосеквестрація  $\text{CO}_2$  є екологічно чистим і ефективним способом.

**Актуальність роботи.** Серед різних методів очищення повітря від діоксиду карбону саме застосування ферменту, що міститься у білку дикорослої лутиги блискучої, має суттєві переваги. Дана рослина не потребує добрив, швидко росте, не потребує великої ділянки землі, стійка до посухи, відсутня особливість щодо кількості та частоти зволоження ґрунту, належить на противагу багатьом до наземних культур. Рослина може рости на ділянках, багатих мінеральними солями: на берегах річок, а також враховуючи приналежність до бур'янів виростати у посівах, луках, в садах, на полях, уздовж доріг, обабіч залізниць. У дослідженні підкреслюється ефективність поглинання діоксиду вуглецю, завдяки

карбоангідразній активності ферменту з білкової фракції, яка ізольована із листків *Atriplex sagittata*.

**Мета** роботи полягає у дослідженні властивостей ферменту карбоангідрази білку дикорослої лутиги блискучої в процесі поглинання діоксиду вуглецю.

Для виконання поставленої мети були вирішені наступні завдання :

- проведено аналіз основних джерел забруднення повітряного середовища;
- оцінювання хімізму ферменту карбоангідрази.

**Об'єкт дослідження:** листкова фракція з рослини дикорослої лутиги блискучої (*Atriplex sagittata*).

**Предмет дослідження:** активність карбоангідрази рослинного походження, білка *Atriplex sagittata* у процесі поглинання діоксиду карбону.

**Методи дослідження:** Для виконання дослідницьких завдань у роботі були використані експериментальні, вимірювальні та біологічні методи:

- визначення мікроскопічної будови – виконувалось за стандартною методикою;
- виділення фракції розчинних білків з рослини – здійснювалось за допомогою методу центрифугування, за методом *Makino*;
- визначення кількості хлорофілу та каротиноїдів – за методом *Wellburn*;
- визначення активності ферменту карбоангідрази – визначали використовуючи індикатор та воду насичену CO<sub>2</sub> за методом *Capasso*;
- процес секвестрації, за допомогою якого відбувається вилучення CO<sub>2</sub>, та з випадінням осаду карбонат кальцію, перевіряли використовуючи спектрофотометр UV-1100 за методом *Favre*.

#### **Наукова новизна:**

1. Обґрунтовано доцільність застосування ферментів дикорослої лутиги блискучої для очищення повітря.

2. Проведено дослідження дії ферменту в різних температурних умовах. Встановлено, що оптимальними температури та час протягом, якого спостерігається активність ферменту. Оптимальним є перебування ферменту за температури не вище 40°C, з додаванням гліцерину до 20 годин .

3. У даному дослідженні визначено ефективність секвестрації діоксиду карбону до появи осаду карбонату кальцію з використанням карбоангідрази рослинного білку, було досягнуто результатів при рН 8,5; 9,5 та рН 11 за температури до 37 °С.

**Практичне значення** - полягає у визначенні оптимальних умов активності карбоангідрозного ферменту білкової фракції рослини для досягнення поглинання якомога більшої кількості вуглекислого газу. Отримані результати після проведення дослідження активності ферменту білкового препарату можуть бути застосовані, для ефективного вилучення діоксиду карбону з газових викидів.

**Особистий внесок здобувача:** Кваліфікаційна робота була виконана самостійно здобувачем.

Експериментальна частина проводилась в «Інституті ботаніки ім. М.Г. Холодного НАНУ» за керівництвом к.б.н. Федюк О.М..

Здійснення аналізу інформації, проведення планування процесу та написання кваліфікаційної роботи здійснювались за безпосередньою участю наукового керівника к.т.н, доцента Котинського А.В..

**Структура і обсяг кваліфікаційної роботи:** Робота складається із вступу, 3 розділів, висновків, списку використаних джерел із 50 найменувань. Кваліфікаційну роботу виконано на 71 сторінках друкованого тексту, ілюстровано 37 рисунками, 4 таблицями, 1 додатком.

# РОЗДІЛ 1

## ПРОБЛЕМА ВПЛИВУ ЗМІНИ КЛІМАТУ ТА ЗАБРУДНЕНЬ НА ПОВІТРЯНЕ СЕРЕДОВИЩЕ

### 1.1 Негативний вплив збільшення діоксиду карбону для екосистеми

Кожного року спостерігається підвищення рівня діоксиду карбону ( $\text{CO}_2$ ) в атмосфері Землі, що наразі становить серйозну загрозу, адже дана екологічна проблема впливає на глобальне потепління.<sup>1</sup>

Згідно сучасним дослідженням концентрація  $\text{CO}_2$  в атмосфері становить більше ніж 0,04 % і очікується, що вміст у атмосфері продовжуватиме зростати протягом десятиліть, враховуючи різні сценарії щодо пом'якшення зміни клімату. Науковцями встановлено, що підвищений вміст діоксиду карбону стимулює процес фотосинтезу у рослин, проте існує значна невизначеність щодо ступеня, до якого рослини можуть підтримувати високі рівні продуктивності, а також тривалість використання вуглецю, залежно від підвищення концентрації  $\text{CO}_2$ .<sup>2</sup>

Зміни в біосфері, в результаті забруднення зокрема діоксидом азотом, шкодить якості повітря в усьому світі. Екосистеми швидко змінюються у відповідь на зміну температури та інші чинники глобальних змін клімату. У рослин відбуваються видова зміна, через вплив температурного режиму, кількість опадів, концентрацію діоксиду карбону в атмосфері, хімічний склад водойм, а також регулярні та масштабні природні катастрофи.

Діоксид вуглецю є природною частиною вуглецевого циклу Землі, який циркулює між атмосферою, рослинами, тваринами, мікроорганізмами, ґрунтами та океанами, однак людська діяльність, найбільше вплинула та в результаті зменшила здатність природних поглиначів вуглецю, зокрема рослин, видаляти його в достатній кількості з атмосфери. Зміна клімату, екстремальна посуха, часті пожежі, спричиняють втрату наземного біорізноманіття, впливають на накопичення вуглецю в екосистемі як прямо, так і опосередковано. Екосистеми ж різняться за своєю

чутливістю та реакцією на зміну клімату через складну взаємодію між організмами, а різні стресові фактори загрожують біорізноманіттю в цілому всьому світу.<sup>3</sup>

Великій кількості живих організмів, особливо вищим рослинам карбон (IV) оксид необхідний для фотосинтезу, в результаті, якого утворюється кисень і глюкоза, яка потрібна далі для отримання енергії. Наразі фіксується, що діоксид карбону, утворюється у значно більших кількостях, зокрема внаслідок антропогенної діяльності. Цей газ сприяє глобальному потеплінню і є основним парниковим газом.

Разом з іншими парниковими газами спричиняють загострення «парникового ефекту», обмежуючи у навколишньому природному середовищі теплове випромінювання, яке досягає Землі, затримуючи все більше тепла, сонячної енергії в атмосфері планети. Підвищення температури доквілля може мати негативні наслідки, зокрема збільшення масштабів лісових пожеж, зменшення опадів, підвищення рівня моря, втрати біорізноманіття та загального погіршення якості життя в екосистемах.<sup>4</sup>

Частина вуглекислого газу, який виникає під час діяльності людини, реагуючи з водою утворює карбонатну кислоту ( $H_2CO_3$ ), що з часом розпадається на інші речовини, що знижують рН води. Особливо висока загроза існує для морських екосистем, через переважаючих доволі чутливих організмів, більш вразливі до змін, через небезпеку нагрівання та опріснення водойми. У кислій воді змінюється поведінка риб, що негативно впливає на швидкість росту та загалом виживання організмів на ранніх стадіях життя. Закислення води руйнує і зменшує кількість коралових рифів, що підвищить вразливість під час цунамі чи повені, ерозії ґрунту прибережних територій. Тому що в малих кількостях вони не можуть виконувати свою одну з головних ролей, а отже природного захисту від хвиль та бути середовищем існування для рибних популяцій. Якщо рівень діоксиду вуглецю в атмосфері планети продовжуватиме зростати з поточною швидкістю, тоді рН води досягне високого рівня, тому в кінці XXI століття вода буде на 150% кислішою.<sup>5</sup>

Для людини шкідлива постійна висока концентрація  $CO_2$  у приміщенні, тому

що призводить до низки серйозних проблем для здоров'я, зокрема спостерігають такі симптоми, як: головні болі, запаморочення, млявість, труднощі з концентрацією уваги, емоційні розлади, блювоти, нудота, загострення інших хвороб.

У результаті фізичної активності у середовищі, де рівень діоксиду карбону високий, наприклад, більше 5000 *ppm* протягом кількох годин, фізичні навантаження можуть спровокувати прискорене симптомів, викликаючи підвищення серцебиття та артеріального тиску, асфіксію, судоми, іноді в крайніх випадках кому. Циркулює діоксид вуглецю у крові потрапляючи зокрема до легень, і ця циркуляція посилюється під час вправ, тому що кисень надходить до м'язів і вони завдяки ньому можуть продовжувати рух. Фіксують, що при забрудненні озоном, який є потужним окислювачем повітря, через тривале дихання таким повітрям, виникає нестача кисню в організмі, окрім цього можуть виникнути хвороби серця та пошкодження мозку.<sup>4</sup>

Кліматологами виявлено, що концентрація діоксиду карбону в атмосфері Землі фіксується у діапазоні майже у 412 *ppm* і продовжує зростати, що наразі стало рекордним рівнем в порівнянні з минулими роками. До таких висновків прийшли вчені, проаналізувавши вміст важких ізотопів вуглецю - 13 у викопних відкладеннях судинних рослин (*Tracheophyte*), які здатні до C<sub>3</sub>-фотосинтезу. Дане дослідження вказує на джерела утворення цього газу, тобто він виникає в результаті спалювання викопного палива.<sup>6</sup>

## **1.2 Аналіз основних антропогенних та природних джерел забруднення діоксидом вуглецю повітряного середовища**

До основних причин зростання концентрації діоксиду карбону в атмосфері планети належать:

- спалювання викопного палива - для отримання енергії;
- вирубка лісів – для виготовлення паперу, обігріву житла тощо;
- сільськогосподарська діяльність,

- виробництво будівельних матеріалів, які мають значний вплив на зміну концентрації карбон (IV) оксиду.<sup>1</sup>

Розвиток промислових виробництв, винайдення різних транспортних засобів, для роботи яких використовують викопне паливо, спричинило добування корисних копалин та масовим вирубкам гектарів лісів, а через це виникає збільшення концентрації діоксиду вуглецю та призводить до поточного стану глобального потепління.<sup>7</sup>

У 2021 році загальна кількість забруднень діоксидом вуглецю в Україні становило близько 225 млн т еквіваленту діоксиду карбону, що становить 72,80 % викидів від загальної суми парникових газів. Дані щодо парникових газів, за останні двадцять років, які не були включені до галузевого сектору LULUCF, показані на рисунку 1.1<sup>7</sup>

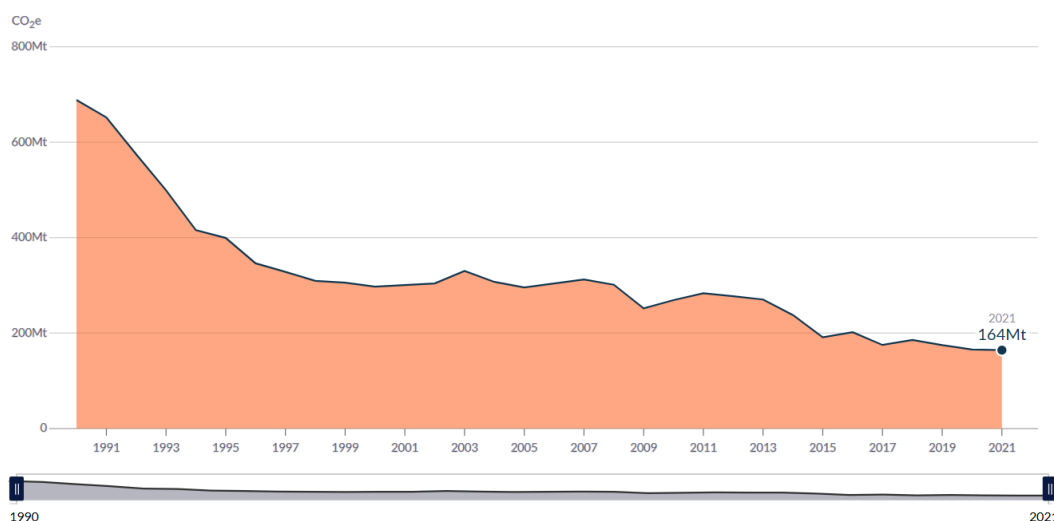


Рис 1.1 - Індекс викидів парникових газів в Україні в період 1990-2021 років

Найбільшу кількість викидів у 2021 році, згідно даним, спричиняв сектор енергетики, виробляючи сумарно близько 167,00 млн т викидів ПГ, враховуючи виробництво електроенергії та тепла становить 74,20 % від всіх викидів.

За обсягом викидів, які виробили найбільше забруднення, на сільське господарство припадає 33,00 млн т, що від обсягу ПГ становить до 14,60%, за даними наведеними на рисунку 1.2<sup>8</sup>

Energy	167.2m
Agriculture	33m
Waste	14.8m
Industrial Processes	10.3m
Land-Use Change and Forestry	-3.2m

Рис 1.2 - Кількість викидів діоксиду карбону в Україні за 2021 рік (в т)

Загалом викиди CO<sub>2</sub> у секторі енергетики у 2021 році склали майже у тричі менше порівнюючи з 1990 роком, загалом 592,25 млн тон та складаються з викидів утворених після спалювання не відновлюваного викопного палива. Така структура викидів зумовлена високою енергоємністю економіки, на тлі економічного занепаду, а також суттєвих структурних змін у економіці країни.

У результаті спостерігається значне скорочення викидів діоксиду карбону за період від 1990 року до 2021 років, представлені на рисунку 1.3.<sup>9</sup>

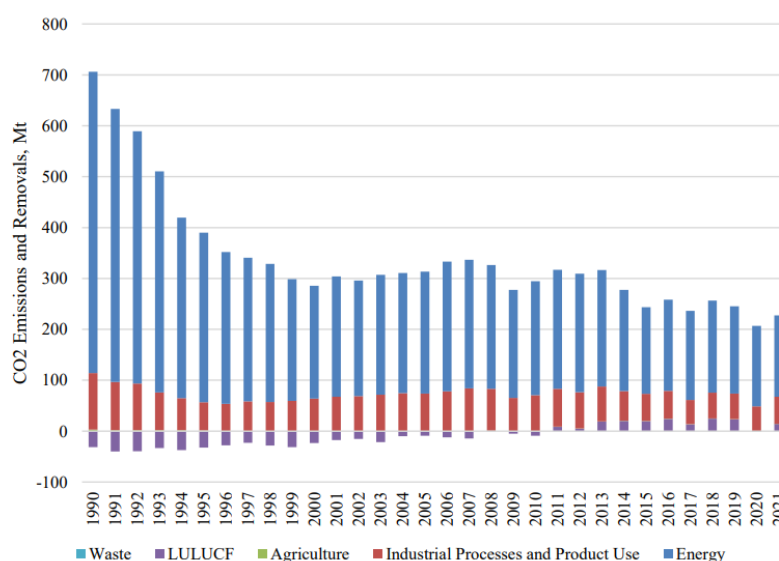


Рис 1.3- Викиди та поглинання двоокису вуглецю за секторами в Україні

Відповідно за існуючим аналізом, який було створено Міністерством захисту довкілля та природних ресурсів України спільними зусиллями із Національним центром обліку викидів парникових газів, були проведенні підрахунки викидів діоксиду карбону в секторі промислових процесів і використання не відновлюваних

джерел для отримання продукції. Отже у 2021 році становили 34,15 *млн т* CO<sub>2</sub>-еквіваленту, що є на 7,50 % більше в порівнянні з 2020 роком.

Інформація щодо динаміки викидів, які були зафіксовані протягом періоду, що становив тридцять один рік, описані в «Національному кадастрі антропогенних викидів із джерел, абсорбції поглиначами парникових газів в Україні за 1990-2021 роки». Документ розробили відповідно до вимог Рамкової конвенції ООН про зміну клімату, який демонструє небайдужість України до проблеми глобального потепління та приєднався до боротьби світу із кліматичною кризою. Всі данні повністю залежать від суспільних подій, які відбувалися не лише в Україні, але й у всесвітній історії.<sup>9</sup>

За допомогою цього документу можна визначити, в яких сферах діяльності у державі переважають викиди. Це допоможе аналізу визначити технології спрямовані на поглинання парникових газів використовувати їх потенціал для формування кліматичної політики. Також міжнародна спільнота здійснює оцінювання динаміки змін від безпосередньо країни утворювача масштабних викидів в атмосферне повітря та перевіряти ефективність вжитих заходів для їх зменшення. За допомогою розробленої Національної кадастрової системи, реєстрації суб'єктами господарювання своїх установ до системи Єдиного реєстру, з'явилася можливість проводити моніторинг, верифікації, звітності викидів парникових газів.

Зокрема динаміка викидів у період 2016...2019 роках коливалася на рівні 337 *млн т* до 362 *млн т* CO<sub>2</sub>-еквіваленту. На ці роки перепадав початок реалізації програми політики країни щодо енергоефективності, впроваджувалася програма «Теплі кредити», поступово регулювали тарифи на споживання електроенергії, тепла, гарячої води відповідно ринковим значенням.

В результаті порівнюючи із 2019 роком, через пандемію COVID-19 та в результаті дії вжитих, заходів з метою боротьби з вірусом викиди у 2020 році зменшилися на 11%. Спостерігалось у 2021 році відновлення економіки та прямо пропорційний зріст, в порівнянні з попереднім 2020 р., у якому викиди парникових

газів на близько 7,50 % більше.<sup>10</sup>

Найбільшим джерелом викидів у даному секторі є металургійна промисловість, адже під час виробництва різних корисних копалин, виготовлення: аміаку, чавуну, сталі та алюмінію, тощо викидів становить 68,00 %.<sup>9</sup>

В результаті розвитку процесу урбанізації населення у світі все більше часу проводить в приміщеннях (в офісах, громадських закладах харчування, житлових будинках і т. д.), тому здоров'я відповідно дослідження ВООЗ залежить від якості повітря, а забруднене навколишнє середовище є одним з найбільших екологічних загроз для людини. небезпечні забруднюючі речовини, можуть проникати у приміщення з навколишнього середовища, а також внутрішнього, після використання газових конфорок без вентиляції, несправні прилади для приготування їжі чи при використанні каміну, опалення, від транспортних засобів.<sup>11</sup>

Викиди діоксиду вуглецю виникають не лише на планеті, але й у закритому середовищі, наприклад на бортах МКС, який може утворитися майже весь внаслідок дихання астронавтів. Рівень даного газу контролюється на МКС за допомогою підсистеми відновлення атмосфери та системи контролю навколишнього середовища та життєзабезпечення, а також NASA встановило максимально допустимий середній двадцяти чотирьох годинний рівень діоксиду карбону на борту МКС на рівні 5 250 ppm.

Оскільки повітря не циркулює в умовах відсутності гравітації, яка присутня на Землі, у деяких частинах МКС може накопичуватися CO<sub>2</sub>. Завдяки спеціальним системам датчиків, фільтрам та системам очистки, особливо, коли частина астронавтів сплять, контролюється рівень небезпечного газу та автоматично очищується. Завдяки актуальним методам очищення повітря, створюють безпечні умови для екіпажу бортів МКС.<sup>12</sup>

### **1.3 Сучасні методи зменшення рівня діоксиду карбону в повітрі**

Вуглекислий газ є основним парниковим газом, і його вловлюванню та фіксації,

з можливим подальшим перетворенням наразі приділяють все більше уваги. Для контролю в повітрі діоксиду карбону застосовують різні технології: фізико-хімічні, хімічні, можливе поєднання з механічними та біологічними способами очищення.

З метою виділення та очищення діоксиду вуглецю, використовують: абсорбційні методи, наприклад застосовують водяних скрубєрів, фізичне поглинання в органічних розчинниках під певним тиском, хімічні або мембранні методи<sup>12</sup>.

Основним недоліком технології очищення атмосферного повітря за допомогою скрубєрів та хімічного поглинання є потреба у великій кількості води. Також зокрема в системах очищення із використанням абсорбентів для поглинання, зокрема використовують активоване вугілля, а при фізичному поглинанні в органічних розчинниках застосовують пропилен карбонат, диметиловий ефір чи низькотемпературний метанол.

Також можуть застосовувати метод в результаті, якого закачують для зберігання до підземних резервуарів, які можуть знаходитися на певній глибині в океані, після попереднього вилучення CO<sub>2</sub> з газової суміші наприклад хімічною абсорбцією<sup>12</sup>.

Проте через лісові пожежі, які є доволі не безпечними, зокрема через зменшення вмісту кисню, а у пилі та повітрі окрім вуглекислого газу накопичуються інші отруйні речовини, синильну кислоту, фосген. За допомогою повітряних потоків, діяльність промисловості, роботу транспортних засобів, відбувається пришвидшення поширення забрудненого повітря, яке може потрапити до приміщення.

Для зменшення проникнення такого повітря у будівлі, необхідно використовувати механічне вентиляційне обладнання, із системою припливу повітря через вентилятори, що зменшить проникнення зовнішніх забруднюючих речовин., фільтруючи його за допомогою різних фільтрів.<sup>13</sup>

Згідно світовим практикам все частіше пропонують нові методи, зокрема застосували в компанії «Global Thermostat» доволі дорогу технологію прямого уловлювання, за допомогою системи вентиляторів, вилучали діоксид вуглецю з повітряного середовища і потім відправляли його у камери зберігання.

Згідно зі звітами від компанії «Fast Company», було встановлено, що обладнання яке використовують, може вловлювати до 4000 *тон* діоксиду вуглецю щороку, а це еквівалентно забрудненню, яке можуть викидати у навколишнє природне середовище щонайменше 870 автомобілів.<sup>14</sup>

Сучасне Вчені з Європи здійснили незалежне дослідження з «Paul Scherrer Institute», а також «ETH Zurich». Вони досліджували ступінь прямого захоплення CO<sub>2</sub> з навколишнього середовища, з метою ефективного видалення і допомоги у боротьбі з парниковими газами у повітрі. Загалом вчені вивчили і опрацювали дані з п'яти різних конфігурацій для уловлювання CO<sub>2</sub> розташованих у восьми різних місцях по всьому світу, а саме: Чилі, Греції, Йорданії, Мексиці, Іспанії, Ісландії, Норвегії та Швейцарії. Дослідники виявили, що різні системних конфігурації процесів, уловлювання, можуть дозволити вловити більшу частину викидів за допомогою даної технології.<sup>15</sup>

Протягом останніх років спостерігається розповсюдження впровадження і застосування методів фітореMediaції з метою очищення атмосферного повітря, стічних вод, ґрунтів. За допомогою наземних рослин та здатності поглинання важких металів, надходження токсичних неорганічних сполук умовно ділять на стадії:

- сорбція забруднювачів поверхнею листа рослини;
- дифузія через продихи;
- транспортування у сполучну тканину та судини;
- накопичення у тканинах.<sup>12</sup>

Для відповідального землекористування, проводять контроль за лісовим господарством, здійснюють контроль за галуззю сільськогосподарського виробництва, займаються регулярним лісонасадженням, в результаті швидкість поглинання діоксиду карбону з атмосфери збільшиться. Контрольована згідно законодавчих актів, а також застосування алейного землеробства у сільськогосподарська діяльності може допомогти зменшити викиди за рахунок зменшення використання синтетичних добрив.

За умови дотримання алейного землеробства, що являє собою систему сталого

землекористування, надає змогу частково компенсувати викиди за рахунок інтеграції дерев у своїй діяльності, рослини, які поглинають діоксиду вуглецю сприятимуть покращенню ґрунту та змін у напрямку зменшення потреби використання пестицидів та добрив. Дотримання алейного землеробства позитивно впливатиме не лише на різноманітність ландшафту, а й захищатиме від несприятливих погодних явищ, запобігатиме втраті карбону через ерозію ґрунтів, поліпшить адаптацію до зміни клімату, захищатиме верхній шару ґрунту та всю біоту, завдяки утримуванню води, а також кількість надходження азоту до біосфери планети, зменшуючи небезпеку для водойм.<sup>16</sup>

За допомогою методів уловлювання та секвестрації парникових газів, зокрема вуглекислого газу, новітні технології можуть сприяти зменшенню та контролю викидів, зокрема від антропогенних факторів для досягненні збалансованості концентрації вуглекислого газу, а також його вловлювання з атмосфери Землі.

Завдяки фотосинтезу в рослинах, процесу захоплення, зберігання вуглецю з повітря або океану, відбувається поглинання велику кількість CO<sub>2</sub> з атмосфери. Цикл вуглецю у повітрі, передбачає перенесення вуглецю між атмосферою, океаном і сушею, відіграє вирішальну роль у регулюванні кількості діоксид карбону в атмосфері.<sup>1</sup>

#### **1.4 Потенціал застосування рослинних ферментів у процесі біофіксації діоксиду вуглецю**

Велика кількість природних процесів відбувалась мільйони років тому, але саме це допомогло підтримувати баланс CO<sub>2</sub> в атмосферному повітрі. Однак через збільшення антропогенного впливу, діяльності людей, зокрема в сферах, де необхідно спалювати викопне паливо, спостерігається порушення всіх процесів в екосистемах і призводить до постійного зростання концентрації парникових газів в атмосфері. Наслідком такого впливу стає поточний стан глобального потепління і спостереження прискорення зміни клімату.<sup>17</sup>

Регулярні забруднення від різної діяльності, які тривалий період здійснюють викиди небезпечних газів призводить до постійного збільшення концентрації цього газу, що підкреслює необхідність вивчення, розроблення, ефективних заходів для зменшення викидів, а також захисту клімату планети.

На відміну від інших каталізаторів, саме ферменти мають явні переваги, зокрема високу ефективність, умови реакції та поновлюване джерело у вигляді рослин-біологічних ресурсів.<sup>18</sup>

У природі можуть відбуватися реакції світлозалежного типу, якщо продукти (НАДФН і АТФ) світлозалежних реакцій присутні в хлоропластах рослин. За допомогою циклу Кальвіна відбувається фіксація вуглекислого газу. Рослини з C<sub>4</sub>-шляхом фотосинтезу (де сполука з чотирьох атомів вуглецю є першим продуктом фотосинтезу) можуть постійно використовувати механізм концентрації CO<sub>2</sub>.<sup>19</sup>

Цикл Рубіско-Кальвіна-Бенсона-Башема, також відомі як відновні пентозофосфатні цикли, є першим відкритим біохімічним процесом у рослинах для фіксування вуглекислого газу, тобто цей спосіб дозволяє природним шляхом перетворювати діоксид вуглецю у результаті в органічні сполуки.

Термін цикл Кальвіна використовується для організмів, яким необхідна енергія у подальшому захопленні залежними від світла реакціями, а потім як результат утворення молекул глюкози та інших вуглеводів. Даний важливий через те, що під час темної фази, більша кількість атомів карбону, а саме чотири атоми повертаються знову у цикл, але при фотосинтезі вони були б втрачені. Цикл Кальвіна представлений на рисунку 1.4.

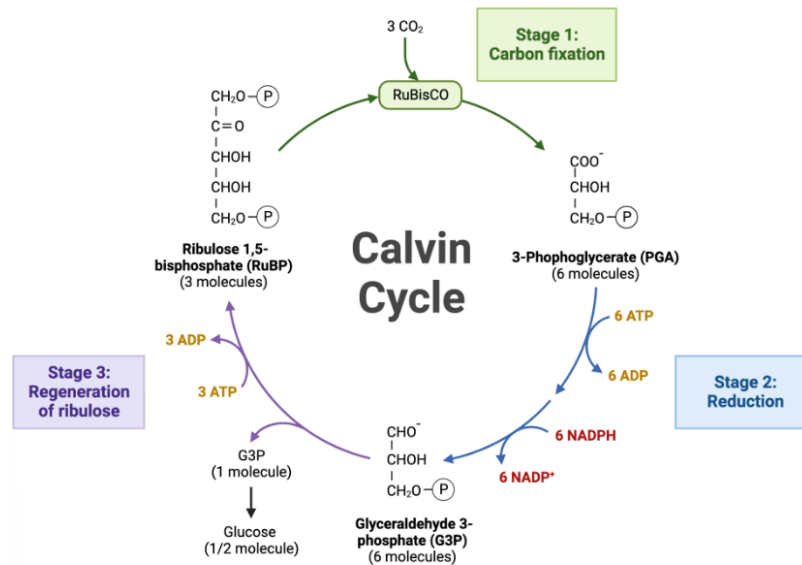


Рисунок 1.4 - Цикл Кальвіна

Загалом основними у циклі Кальвіна є три основні етапи. Перша стадія характеризується тим, що фермент *RuBisCO* (рибозо-1,5-дифосфат-карбоксилаза оксигеназа) включає вуглекислий газ в органічну молекулу. На другій стадії органічна молекула відновлюється. На стадії 3 *RuBP*, молекула, яка починає цикл, регенерується, щоб цикл міг продовжуватися.<sup>20</sup>

Він широко поширений у рослинах, водоростях, ціанобактеріях і деяких хемоавтотрофних мікроорганізмах. У циклі *RuBisCO* каталізує електрофільне приєднання  $\text{CO}_2$  до рибозо-1,5-дифосфату і утворює шести вуглецеву сполуку, яка перетворюється на дві молекули 3-фосфогліцерату. Згодом 3-фосфогліцерат перетворюється на гліцеральдегід-3-фосфат ферментами гліколізу.

Деякі гілки гліцеральдегід-3-фосфату входять у центральний метаболізм вуглецю, а інші використовуються для регенерації *RuBP*, який потім використовується для фіксації  $\text{CO}_2$  як рецептора. Саме тому цей процес називається фіксацією вуглецю, оскільки діоксид вуглецю «фіксується» з його неорганічної форми в органічні молекули.

У 1999 році дослідник Лакнер разом з іншими науковцями продемонстрували

своє дослідження, щодо здійснення контролю рівня забруднення та прямого захоплення CO<sub>2</sub> з повітря. Проте запропонована технологія модернізації нині знаходиться на початкових стадіях комерціалізації. Наразі деякі компанії є активними учасниками у процесі створення комерційних масштабних проєктів для вловлювання, з можливим подальшим очищенням, а саме:

- У Швейцарії Climeworks;
- У США Global Thermostat разом співпрацюючи з Exxonmobil та InfiniTree LLC;
- Giaura у Нідерландах,
- Oу Hydrocell Ltd. у Японії та Carbon Engineering.

Технологія біохімічного поглинання є перспективною технологією, але існує потреба в більш детальному аналізі для розвитку технології з метою високої ефективності поглинання парникового газу.

Відповідно дослідженням та звітам від багатьох країн, за останнє десятиліття виявлено, що в атмосфері планети від початку промислової революції концентрація CO<sub>2</sub>, зростає близько на 25%. Через поширення вуглекислого газу, відбувається збільшення фотосинтезу, при цьому спостерігається пригнічення дихання рослин; але в сукупності прискорює ріст рослин. Саме на етапі фотосинтезу рослини поглинають діоксид карбону з повітря, а з ґрунту воду.<sup>21</sup>

В цей період у рослинній клітині вода окислюється, тобто вона втрачає електрони, а концентрація діоксиду карбону зменшується, тобто отримує електрони. При цьому сполуки води перетворюються на кисень, а діоксид вуглецю стає на завершені реакції глюкозою. Потім рослина вивільняє кисень назад у повітря та накопичує енергію в молекулах, як глюкозу. Нині вивчено, що існують різні типи фотосинтезу, такі які здійснюють C<sub>4</sub>-фотосинтез, або C<sub>3</sub>-фотосинтез, який використовується більшістю рослин.<sup>22</sup>

Сучасні адсорбційні системи можуть бути непридатними для застосування у великомасштабній обробці димових газів електростанцій. У такому масштабі низька адсорбційна здатність більшості доступних адсорбентів може створити значні проблеми.

Крім того, потоки димових газів, які підлягають обробці, повинні мати високі концентрації діоксиду вуглецю.

### 1.5 Характеристика та механізм дії ферменту карбоангідрازی у вищих рослинах

Виникнення карбоангідрازی в рослинах було підтверджено науковцем *Bradfield* в 1947 році. Даний фермент є поширеним цинк-металофермент, важливий для фотосинтезу, процесів поглинання вуглекислого газу, завдяки своїй оборотній здатності перетворювати вуглекислий газ на бікарбонати, а саме гідрокарбонат ( $\text{HCO}_3^-$ ). Будь-яка зміна активності карбоангідрازی безпосередньо впливає на здатність і швидкість фотосинтезу з фіксацією  $\text{CO}_2$ .

Складовим компонентом ферменту карбоангідрازی є цинк, який впливає на процеси пов'язані з фотохімічною реакцією, тобто як на рисунку 1.5, фотосинтезом в «темновій фазі» та диханням рослин.<sup>23</sup>

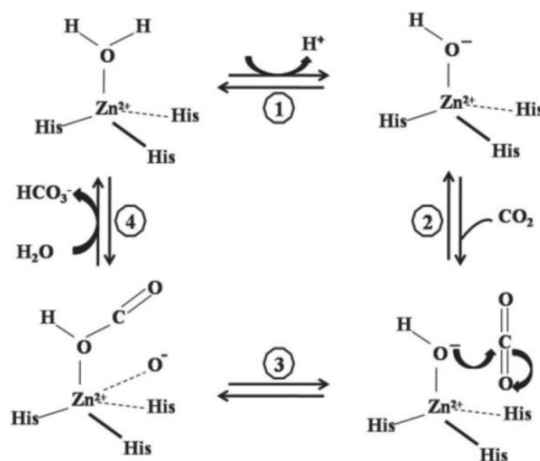


Рисунок 1.5 - Спрощена конфігурація каталізу  $\beta$ -карбоангідрازی

Лише даний та єдиний фермент вуглецевого обміну, демонструє активність, яка серед різних видів рослин коливається при різній концентрації діоксиду вуглецю в навколишньому природньому середовищі. Фермент карбоангідрaza є одним із

найшвидших відомих ферментів, яка гідратує 106 молекул діоксиду карбону, всього за одну секунду часу. Проте зазвичай швидкість реакції цього ферменту обмежується швидкістю дифузії субстратів.

Карбоангідрази каталізують взаємоперетворення вугільної кислоти та діоксиду карбону згідно рівняння :



Для фотосинтезу вищими рослинами можуть бути використані не лише вугільна кислота, а також молекулярний вуглекислий газ, саме тому фермент карбоангідраза є першим кроком у процесі фотосинтезу. Роль ферменту карбоангідрази показано на рисунку 1.6.

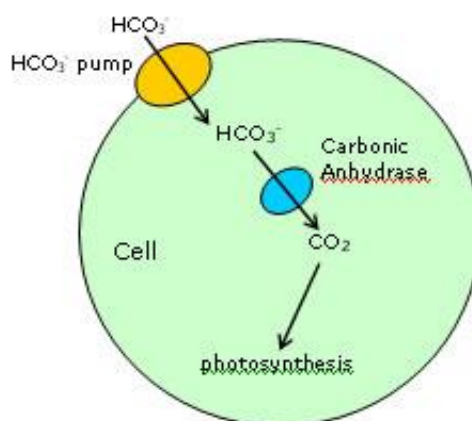


Рисунок 1.6 - Схематична діаграма ролі карбоангідрази у процесі фотосинтетичного поглинання діоксиду вуглецю

Загальна фізіологічна роль діоксиду карбону в рослинах наведена нижче полягає у постачанні  $\text{CO}_2$  та  $\text{HCO}_3^-$  для деяких метаболічних реакцій, таких як  $\text{HCO}_3^-$  для різних реакцій. Навіть у цитозолі клітин  $\text{C}_3$ - фотосинтезу мезофілу СА може бути необхідною для забезпечення  $\text{HCO}_3^-$  інших біологічних реакцій. Газ  $\text{CO}_2$ , який потрапляє в клітини із зовнішнього газового середовища, може проходити через біологічні мембрани і швидко виходити з клітини.<sup>24</sup>

Рослини можуть вирішити цю проблему шляхом перетворення  $\text{CO}_2$ , що

генерується клітиною, в  $\text{HCO}_3^-$ . Наступна роль карбоангідрази полягає в шляху  $\text{CO}_2$ . Існує припущення, що рослини з низьким вмістом хлоропластів компенсували це збільшенням продигової провідності для покращення надходження  $\text{CO}_2$  в листки.<sup>25</sup>

Крім того науковцями було висунуто гіпотезу, що активність КА, необхідна для регулювання рН хлоропластів під час швидких змін інтенсивності світла і фотосинтетичного транспорту електронів. На рисунку 1.7 зображено цикл Кальвіна–Бенсона–Башама<sup>26</sup>

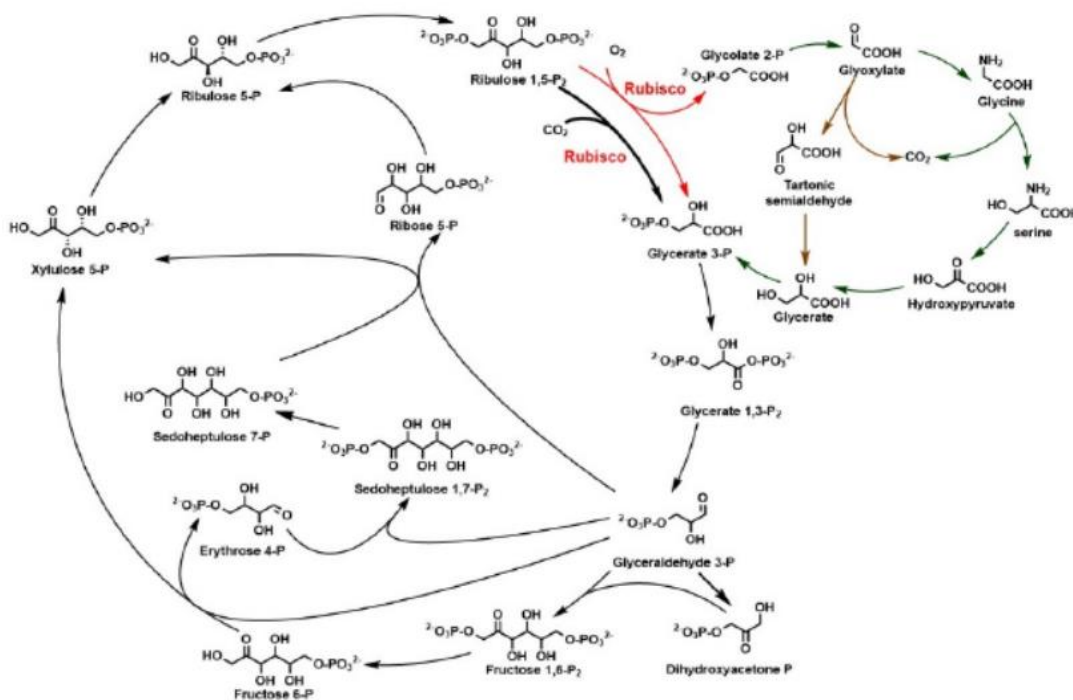


Рисунок 1.7 – Біохімічна реакція циклу Кальвіна–Бенсона–Башама у поєднанні з шляхами відновлення фосфогліколату.

На рисунку показана стадія карбоксилювання, що каталізується Рубіско, а побічна реакція окиснення Рубіско вказана червоною стрілкою. Канонічний фотореспіраторний шлях рослин показано темно-зеленою стрілкою, а також вказано альтернативний шлях відновлення фосфогліколату, виявлений у бактерій. Ацетил-КоА має спільні риси в модульній функції фіксації вуглецю і процедури регенерації рецепторів.<sup>27</sup>

Усі карбоангідрази включають атом цинку в активному центрі, їх поділяють на

три категорії – називаються ці ферменти карбоангідразами  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ .

Найкраще вивчено на  $\alpha$  - карбоангідрази зокрема вони мають кілька спільних елементів послідовності з високим ступенем збереженості та містять цинк, координований трьома гістидинами та (ймовірно) гідроксилком.

Фермент карбоангідраза приймає участь в адаптації білку до низьких концентрацій діоксиду вуглецю у рослин із  $C_3$  - фотосинтезом, а одним з важливих напрямків сучасних наукових досліджень є підвищення інтенсивності асиміляції діоксиду вуглецю  $C_4$  - фотосинтезом шляхом штучної модифікації промоторів КА у рослинах  $C_3$  - фотосинтезом.

Дослідження щодо відмінностей у вмісті ферменту КА (особливо  $\beta$ -КА) між рослинами  $C_3$  і  $C_4$ , а також застосування рослинних КА може сприяти підвищенню ефективності фотосинтезу, поглинання парникових газів. Науковцями у сучасних наукових роботах розроблена кореляція між продиговою провідністю та швидкістю асиміляції  $CO_2$ , яка відрізняється у рослин  $C_3$  та  $C_4$  фотосинтезом, проте механізм цих взаємовідносин наразі вивчений не достатньо.<sup>28</sup>

## РОЗДІЛ 2

### ОБ'ЄКТИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

#### 2.1 Характеристика рослинного об'єкту досліджень

Існує три основні типи фотосинтезу -  $C_3$ ,  $C_4$  і САМ, які мають різні переваги та недоліки. Таким чином, типи фотосинтезу, які переважно зустрічаються в певних середовищах, наприклад, відкриті середовища проживання в теплих і посушливих регіонах, сприяють рослинам  $C_4$ . Вуглекислий газ, міститься в атмосфері, надає і забезпечує вуглець, найважливішою складовою цукру. У всіх рослинах споживання  $CO_2$  обробляється ферментом *Rubisco* в рамках метаболічного процесу, який називається циклом Кальвіна.

Рослини  $C_3$  здійснюють цикл Кальвіна в стандартному типі клітин листка, так званих клітинах мезофілу, рослини  $C_4$  здійснюють його в особливому типі клітин, клітинах пучкової оболонки, і використовують фермент РЕРС для початкового поглинання вуглецю. Цей фермент поглинає виключно  $CO_2$ , який збирається в  $C_4$ -кислоти. Ці кислоти транспортуються до спеціального типу клітин, де вони розщеплюються і знову вивільняють  $CO_2$ .<sup>29</sup>

Це створює локальне середовище з високим вмістом  $CO_2$  навколо *Rubisco*, запобігаючи втратам, спричиненим присутністю  $O_2$ . Даний так званий цикл  $C_4$  пов'язаний з додатковими витратами енергії. Тому  $C_4$  рослини потребують середовища з достатньою інтенсивністю світла. У теплих і посушливих регіонах рослинам мають запобігати втраті води, що супроводжується недостатнім надходженням  $CO_2$ . Тому рослини  $C_4$  поширені у відкритих місцях існування в теплих і посушливих регіонах.<sup>30</sup>

Для визначення можливості застосування рослинних КА в технологіях спрямованих на поглинання  $CO_2$  та їх перспективність для екологічних досліджень необхідно здійснити аналіз даного виду, а об'єктом дослідження є поширена в Україні рослина, а саме: *Atriplex sagittata* (здійснює  $C_4$ -фотосинтез).

Види *Atriplex* є представниками родини *Amaranthaceae*, який складається з близько 260 видів і містять як  $C_3$ -фотосинтезом, так і з  $C_4$ -фотосинтезом рослини. Вони стійкі до засолення ґрунту та посухи та підходять для відновлення деградованих посушливих і напівпосушливих земель.<sup>30</sup>

Рід є одним із найдавніших дикорослих їстівних продуктів; наприклад, такі види, як *A. hortensis*, *A. partulacoides* і *A. sagittata*, використовувалися протягом багатьох століть як листовий овоч.

Сучасні дослідження біологічної активності показали, що екстракти видів *Atriplex* проявляють широкий спектр дії, включаючи антиоксидантну, антихолінеразну, антибактеріальну, протигрибкову і протипаразитарну активність. Нещодавні дослідження *in vivo* виявили протидіабетичну, гепатопротекторну та нефропротекторну дію. Ці дії пов'язані з наявністю різних біологічно активних сполук у видах *Atriplex*, таких як стерини тощо але найважливіше — тритерпенові сапоніни і фенольні сполуки. Відповідно численні дослідження показують, що як флавоноїди, так і фенольні кислоти виявляють потужну антиоксидантну активність у рослині.<sup>31</sup>

Рослина лутига блискуча (*Atriplex sagittata* Borkh) походить із Центральної та Східної Європи та поширюється від до Центральної Азії.<sup>32</sup>

На рисунку 2.1 представлено карту поширення виду у світі.<sup>33</sup>



Рисунок 2.1 – Карта ареалу поширення виду *Atriplex sagittata*

Вид належить до теплолюбних, а його видовою особливістю є стійкість до посухи та засоленості ґрунту, тому підходить для використання з метою відновлення деградованих посушливих, а також напів посушливих земель. Основне середовище з оптимальною темперою є території в пустелях, солончакових степах і різних типах середовищ існування, такі як міські території, дороги, залізниці та біля смітників.<sup>33</sup>

Рослина належить до однорічних сукцесійних видів, до родини, яка містить багато галофітів та видів, пристосованих до інших досить спеціалізованих біотопів, таких як пустелі та напівпустелі, або пристосованих до антропогенних територій.<sup>34</sup>

В Україні розповсюджена по всій території держави, а також рослина може рости по берегах річок та озер. Цвітіння спостерігається у червні-вересні. Це однорічна трав'яниста рослина, котра зображена на рисунку 2.2, яка виростає заввишки близько 50-150 см.<sup>32</sup>



Рисунок 2.2 - Будова рослини *Atriplex sagittata* Borkh.

Нижні пагони і листки супротивні. Листки списоподібні, виїмчаста-зубчасті, з борошнистою поволокою, показано листок рослини на рисунку 2.3.



Рисунок 2.3 - Листя *A. sagittata*

На фотографії зображено листок, який має характерну видову особливість - ромбоподібне розгалужене та списоподібну форму. Листя у рослини видовжене, глянцеве.<sup>32</sup>

В Україні рослину було виявлено у великій кількості в місті Києві, поруч із залізничною станцією, зупинка Новобіличі, зображено рослину на рисунку 2.4.



Рисунок 2.4 – У навколишньому природному середовищі *Atriplex sagittata*

Квітки зібрані у пухкі колоски, що утворюють пірамідальну волоть. За зовнішнім виглядом лутига блискуча так схожа на лободу білу, але квітки у лутиги маточкові й тичинкові. Тичинкова квітка має просту оцвітину з п'яти листочків та андроцей з 5 тичинок.

Маточкова квітка частіше гола, з двома приквітками, які з'єднанні біля основи, гiнецей простий з двох плодолистків. Насіння двох видів: у квітках без оцвітини та велике (3-4 мм у діаметрі), у квітках з оцвітинуою — дрібне (1-1,5 мм в діаметрі).<sup>36</sup>

У різних досліджень екологічної ролі рослини, з'ясовано, що майже всі однорічні види *Atriplex* також демонструють гетерокарпію та використання рослиною C<sub>4</sub>-фотосинтезу, тому вони можуть рости у стресових умовах.<sup>37</sup>

За даними вчених з Польщі здійснивши дослідження було виявлено високий вміст фенольної кислоти та кількісно визначено інші розчинні фенольних кислоти, а саме вільні та кон'юговані. Вивчено науковцями після якісного та кількісного аналізу окремих фенольних сполук за допомогою методу LC-ESI-MS/MS і загальний вміст фенолової кислоти *Atriplex sagittata*, наведений в таблиці 2.1.

Таблиця 2.1 - Вміст фенольних кислот в різних морфологічних частинах *Atriplex sagittata* (екстракт до кислотного гідролізу)

Сполука	Тип зразку			
	Коріння	Стебло	Листя	Квітка
	<i>мкг/г</i>			
1	2	3	4	5
Ферулова кислота	-	-	22,59	18,57
Протокахетова кислота	-	-	-	-
Гентизинова кислота	-	-	-	-
4-гідроксибензойна кислота	-	-	21,25	12,80
Саліцилова кислота	-	-	-	13,83
4-hydroxycinnamic кислота	-	-	-	-

## Продовження таблиці 2.1

1	2	3	4	5
Ванілінова кислота	-	-	-	-
Кавова кислота	-	-	-	-
Сирингова кислота	-	-	-	-
Сінапінова кислота	-	-	-	-
3-гідроксицинамінова кислота	-	-	-	-

Ферулова кислота є найбільш поширеною гідроксикоричною кислотою в рослинному світі. Ця фенольна сполука, зустрічається в рослинах, як у вільній формі, так і у кон'югованих полісахаридах, вуглеводах, глікопротеїнах та лігнінах у клітинних стінках рослин, а також флавоноїди у метанольних екстрактах з різних морфотичних частин рослини *A. sagittata* (коріння, стебла, листя, квіти) разом із оцінкою загального вмісту фенолів та антиоксидантної активності.

Фітохімічні дослідження науковців виявили різні типи флавоноїдів у видах роду *Atriplex*, включаючи звичайні флавоноли, такі як кверцетин, кемпферол та їхні глікозиди, а також рідше зустрічаються глікозиди патулетину або сульфатовані флавоноїди.<sup>38</sup>

## 2.2 Методи досліджень

Під час пошуку рослини в природному середовищі, визначення приналежності до відповідного роду здійснено за допомогою програмного забезпечення від компанії «PlantNet», із назвою застосунку «PlantNet Plant Identification», дата випуску якого становила 21 січня 2014 року. Даний застосунок є проєктом, створений як спільна платформа для ідентифікації рослин за фотографіями(за допомогою їхнього вивчення системою). Вона аналізує, після завантаження фотографій, інформацію з двох GBIF бази даних, перша із назвою «Pl@ntNet observations», та друга «Pl@ntNet

automatically identified occurrences». Створений застосунок у Франції із загальним числом фотографій, що сягає більше 300 тисяч у базі даних. Кількість запитів українською мовою за час існування застосунку сягає більше 1 млн разів, що визначає високу зацікавленість до використання застосунку користувачів з України.

Інформація після аналізу, висновок застосунку, після завантаження фото, подальше визначення приналежності до певного роду зображено на рисунку 2.5.<sup>39</sup>



***Atriplex sagittata***

Common Names: Hoary orache, Purple Orache, Glossy-leaved orache

Рис 2.5 – Результат визначення програмного забезпечення «PlantNet»

Серед визначених рослин обирали саме ту, яка належить до потрібного роду та відповідає основними параметрами необхідним для дослідження, зображено на рисунках 2.6 та 2.7.

Рослина для дослідження обралась за такими критеріями: пагони без пошкоджень, листя з однорідним пігментом, листя та квіти однорідні, рослину без хвороб.



Рисунок 2.6 – Вигляд *Atriplex sagittata* у навколишньому середовищі



Рисунок 2.7 – Форма листя луги блискучої

### 2.2.1 Метод світлової мікроскопії

Багато типів мікроскопів потрапляють до категорії світлових (оптичних) мікроскопів, адже для візуалізації зображення використовують світло. До них можна віднести: біологічні (із яскравим полем, тобто прохідним світлом, призначені вивчати об'єкти прозорі або напівпрозорі), з фазовим контрастом, флуоресцентні мікроскопи, люмінесцентні мікроскопи (підходять для непрозорих чи напівпрозорих об'єктів, метод аналізу на основі явища люмінесценції для об'єктів з різним ступенем здатності відбиття світла).

Такі прилади можуть бути використані для доповнення даних під час діагностики об'єкта. Найбільш часто використовують мікроскоп Брайтфілда, такий тип мікроскопа являє собою складний пристрій, має декілька лінз (від двох), які виробляють темне зображення на яскравому тлі. Деякі моделі біологічних мікроскопів є монокулярними, тобто мають лише один окуляр, хоча більшість сучасних є бінокулярними - мають два окуляри. Кожен окуляр містить лінзу, вона збільшує зображення у 10 разів. На іншому кінці тубуса знаходиться набір об'єктивних лінз. Всі види лінз об'єктива працюють разом, для створення збільшеного зображення, тоді продукт, який зазнав змін був тільки збільшеним для

очей, що разів перевищує об'єктивне збільшення. Основна мета світлової мікроскопії полягає у застосуванні для аналізу об'єктів, використання

діагностики за допомогою світлового мікроскопа. За умови, що обрана лінза має збільшення у 40 разів, об'єктив і очна лінза збільшення у 10 разів, тоді загальне збільшення буде дорівнювати 400.

Світловий мікроскоп складається з різних основних частин, кожна з яких відіграє певну роль у функціонуванні приладу. У навчальних цілях використовують зазвичай об'єктиви збільшення: від  $\times 8$ ... $\times 40$ . Зазвичай окуляр складається з 2-3 лінз. Збільшення окулярів позначено на них цифрами:  $\times 7$ ,  $\times 10$ ,  $\times 15$ .

Механічна система оптичного мікроскопа складається з: основа-підставка, штатива, тубуса, предметного столика, гвинтів призначених для фокусування, кронштейна конденсора, гвинта переміщення конденсора, револьверної головки.

Перед використанням оптичного мікроскопа, його приєднують до джерела живлення або використовується дзеркало для освітлення, тоді попередньо необхідно обрати достатньо природно освітлене розташування.

Підготувати зразок, помістивши його на предметне і накрити покривним скельцем, щоб забезпечити належний захист перед тим, як встановити його на предметний столик.

Після закріплення предметного скла за допомогою металевих затискачів, помістити зразок в центрі під найнижчою лінзою об'єктива. Дивитися в окуляр та поступово, обережно регулювати гвинтами, щоб сфокусувати обрати підходящу відстань до зразку. При збільшенні зображення, вони будуть ставати темними, через зменшену площу освітлення зображення.

Для оптимізації освітлення, потрібно користуватися конденсатором для отримання найвищої інтенсивності світла. Якщо необхідно, регулювати діафрагму під предметним столиком, особливо при використанні об'єктива малої потужності. Закінчивши ретельно вивчати зразок з об'єктивом із найменшою потужністю, переключитися на об'єктив із середньою потужністю та змінити фокус за допомогою ручки точного регулювання. Значно збільшені зображення, отримані мікроскопами, тому вимагають інтенсивного освітлення. Різні кольори зразків, через

кількість пігменту, тому при поглинанні світла і відбиванні певні довжини хвиль променів світла, по різному частинах зразка можуть по різному освітлюватися.

Часто використовують пігменти - барвники, які штучно зафарбовують зразок, з метою підвищення контрастності та роздільної здатності під час використання мікроскопу. Це дозволяє бачити об'єкти, настільки малого розміру, проте не менші об'єкти ніж віруси. Тому що при великих збільшеннях роздільна здатність, може бути порушена, через велику різницю між показниками заломлення світла та скла, а також у повітрі розсіюються промені світла.<sup>40</sup>

### 2.2.2 Методи кількісного визначення пігментів та загального білку

Для дослідження вмісту середньої концентрації хлорофілу *a* (Chl. *a*), *b* (Chl *b*), сумарних каротиноїдів використовували листову фракцію дикорослої лутиги блискучої, яку збирали для аналізу за відсутності в рослини видимих ознак старіння.

Попередньо подрібнений рослинний матеріал взяли наважку 0,1 г, потім додали 2 мл ДМСО. Далі протягом трьох годин витримували на водяній бані підтримуючи температуру 67°C. В отриманому екстракті проводили вимірювання за допомогою спектрофотометра за довжини хвилі 665 мкм, а також 649 мкм — для хлорофілів *a* та *b* та 480 мкм — для каротиноїдів.

Вміст пігментів розраховували за запропонованими *Wellburn* формулами:<sup>41</sup>

$$\text{Chlorophyll } a = 12,19 \cdot A_{665} - 3,45 \cdot A_{649}, \quad (2.1)$$

де  $A_{665}$  - оптична густина розчину (665 нм) за час якої відбувається поглинання максимальної кількості хлорофілу *a*;

$A_{649}$  – оптична густина при 649 нм, яка лише частково відображає вплив хлорофілу *b*

$$\text{Chlorophyll } b = 21,99 \cdot A_{649} - 5,32 \cdot A_{665}, \quad (2.2)$$

де  $A_{649}$  – при максимальному поглинанні хлорофілу  $b$  (649 нм);

$A_{665}$  – враховує вплив хлорофілу  $a$  (665 нм);

21,99 та 5,32 – коефіцієнти для точного обчислення;

12,19 і 3,45 – коефіцієнти, що враховують специфіку хлорофілу за певної довжини хвилі.

$$\text{Carotenoids} = (1000 \cdot A_{480} - 2,14 \cdot \text{ChI}_a - 70,16 \cdot \text{ChI}_b) : 220, \quad (2.3)$$

де  $A_{480}$  – оптична густина (480 нм), яка відповідає часу, коли найбільше поглинання каротиноїдів;

1000, 2,14, 70,16 – коефіцієнти, необхідна для врахування впливу хлорофілів під час вимірювання каротиноїдів;

220 – коефіцієнт для нормалізації до стандартної одиниці для концентрації.

Для розрахунку кількісного вмісту пігментів необхідно за формулою:

$$X = (V \cdot C \cdot 100) : (m \cdot 1000 \cdot (100 - W)), \quad (2.4)$$

де  $V$  – загальний об'єм витяжки, мл;

$C$  – концентрація пігменту, мг/л;

$m$  – наважка сировини, г;

$W$  – втрата у масі при висушуванні сировини, %.

### 2.2.3 Метод виділення із дикорослої рослини фракції розчинних білків

Для виділення рослинного білку попередньо готували рослинний матеріал, зібраний у місті Києві, поруч із залізничною станцією «Новобіличі» рослинний

об'єкт *Atriplex sagittata* зібраний у період тривалості практики в навчальному 2024 році. Для здійснення первинного очищення, щоб надалі отримати сумарні білкові фракції рослини застосовували метод *Makino*.<sup>42</sup>

Після попередньої перевірки, щодо відповідності виду, рослину разом з корінням викопали та швидко доставили в лабораторію, одразу як видаляють листя його нарізають та зважують у мірному стакані для визначення ваги, на рисунку 2.8.



Рисунок 2.8 – Механічно розділене зважене листя

Наступним етапом подрібнили листкову фракцію лутиги блискучої для отримання однорідної суспензії зображено на рисунку 2.9.



Рисунок 2.9 – Подрібнення листкової фракції

Після подрібнення отриману рідину повторно відміряли у мірному стакані на рисунку 2.10.



Рисунок 2.10 – Рідка форма листової фракції

За необхідності для уникнення потрапляння частинок листя проціджували через фільтрувальні тканини. Наступним етапом було урівноваження суміші, процес показано на рисунку 2.11.



Рисунок 2.11 – Урівноваження суміші

Методом центрифугування у центрифугі, яка обладнана безступеневим регулятором частоти обертання, протягом 5 хв при 8000 обертів.

Після методу центрифугування, результат представлено на рисунку 2.12



Рисунок 2.12 – Білок з рослинного екстракту після центрифугування

Отриманий білок необхідно охолоджувати до 0°C, використовуючи морозильну камеру, у пробірках типу Eppendorf, як на рисунку 2.13.

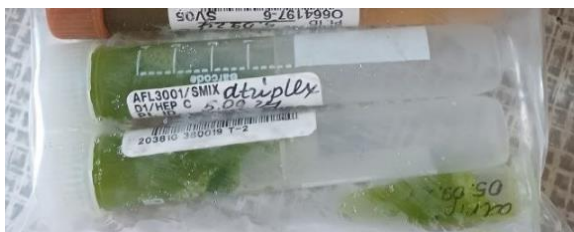


Рисунок 2.13 – Пробірки з білком з листкової фракції *A. Sagittata*

Для визначення загального азоту в листі, до подрібненої листкової фракції додають 50 мМ літій-фосфатного буфері, рН 7,0, що містив 120 мМ 2-меркаптоетанолу, 2,5 мМ йодооцтової кислоти та 5% гліцерину за співвідношення 1:7 (г/мл) листя: буфер, змішують в охолодженій ступці з товкачем. Загальний вміст азоту в листі вимірювали з частини цього неочищеного гомогенату. Після додавання 25% розчину додецилсульфату літію до гомогенату (з кінцевою концентрацією 1,0%) цей препарат негайно нагрівали при 100°C протягом 45 с.<sup>39</sup>

Наступним етапом був аналіз надосадової рідини для визначення вміст *Rubisco* використовуючи SDS-PAGE. Визначали спектрофотометрично вміст *Rubisco* шляхом формамідної екстракції смуг субодиниць, забарвлених діамантовим синім Кумасі R-250, використовуючи калібрувальні криві, побудовані з *Rubisco*.<sup>40</sup>

## 2.2.4 Метод визначення рН середовищ

Для вимірювання рідини і отримання необхідного значення рН середовища, приготованих розчинів та сумішей застосовували прилад рН-340. Під час аналізу вимірювали, попередньо відкалібрований пристроєм, додаючи рН титрант по 0,05 мл вносили до пробки вручну поки реакція не завершиться і концентрація на екрані не буде потрібною для подальшого дослідження.<sup>43</sup>

## 2.2.5 Методика визначення концентрації рослинного білка

Щоб визначити в екстракції концентрацію загальних білків *A. sagittata*, проводили вимірювання за оптичною щільністю білку згідно методики *Bradford*.<sup>44</sup>

Розчин білка, що містить від 10 до 100 мкг білка в об'ємі до 0,1 мл, піпеткою вносять у пробірки розміром 12 мм на 100 мм. Готували реактив з білком розчиняючи Coomassie Brilliant Blue G-250 (100 мг) в 95% етанолу(50 мл).

До цього розчину додавали 100 мл 85% (w/v) фосфорної кислоти. Отриманий розчин розбавляли до кінцевого об'єму - 1 л. Кінцеві концентрації в реагенті становили 0,01% (w/v) Coomassie Brilliant Blue G-250, 4,7% (w/v) етанолу та 8,5% (w/v)фосфорної кислоти. Об'єм у пробірці доводили до 0,1 мл за допомогою відповідного буфером.

У пробірку додавали 5 мл білкового реагенту пробірку, а потім перемішували зміст за допомогою інверсії. Вимірювали поглинання при довжині хвилі 595 нм на спектрофотометрі, через 2 хвилини і до 1 години у кюветах об'ємом 3 мл проти холостого реагенту, приготованого з 0,1 мл відповідного буфера і 5 мл білкового реагенту, зображено на рисунку 2.14.

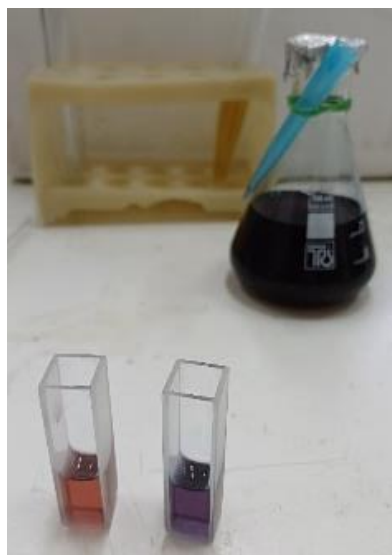


Рисунок 2.14 - Визначення загальної концентрації білка за методом Бредфорда

Масу білка наносили на калібрувальний графік проти відповідного поглинання, в результаті чого отримують стандартну криву, яку використовували для визначення білка в інших зразках. Кількість білку в пробі визначали по калібрувальній кривій, побудованій на стандартних концентраціях бичачого сироваткового альбуміну (БСА).

Приміром, до 10-100 *мкг* білка в 0,1 *мл*, додавали 5 *мл* реагенту-барвника і добре перемішували. Поглинання в пробі вимірювали через 5 хвилин після додавання реагенту. Кількість білку в пробі визначали по калібрувальній кривій побудованій на стандартних концентраціях кривої БСА.

### **2.2.6 Методика визначення карбоангідразної активності в рослинних сумарних білкових фракціях**

Для визначення активності в рослинному білку КА застосовували методику, описану *Capasso*. Аналіз ґрунтується на моніторингу зміни рН при каталітичному перетворенні діоксиду карбону на бікарбонат при визначенні кінетичних констант з використанням  $\text{CO}_2$  як субстрату.<sup>45</sup>

Індикатором реакції слугував бромтимоловий синій, використовували воду

насичену вуглекислим газом і за певний час за допомогою цього індикатора спостерігали зміну рН, зображено на рисунку 2.15.



Рисунок 2.15 – Індикатор бромтимоловий синій та вода насичена  $\text{CO}_2$

Аналіз гідратазної КА активності проводили при  $0^\circ\text{C}$ , застосовуючи крижаної бані та попередньо-охолоджених пробірок. Наступними етапом за допомогою механічних дозаторів піпеточних, які забезпечує високоточне дозування та регулювання об'єму речовини, додавали у дві пробірки, по  $1,0 \text{ мл}$  крижаної води (рН-5,2), яка насичена вуглекислим газом, потім додаючи до  $1,0 \text{ мл}$  суміші буфер  $25 \text{ мМ Tris-SO}_4$  (рН 8,3), рН-індикатор бромтимоловий синій та  $20 \text{ мкг}$  ферменту.

На рисунку 2.16 спостерігаємо за зміною кольору від синього до жовтого кольору (контрольна проба праворуч).

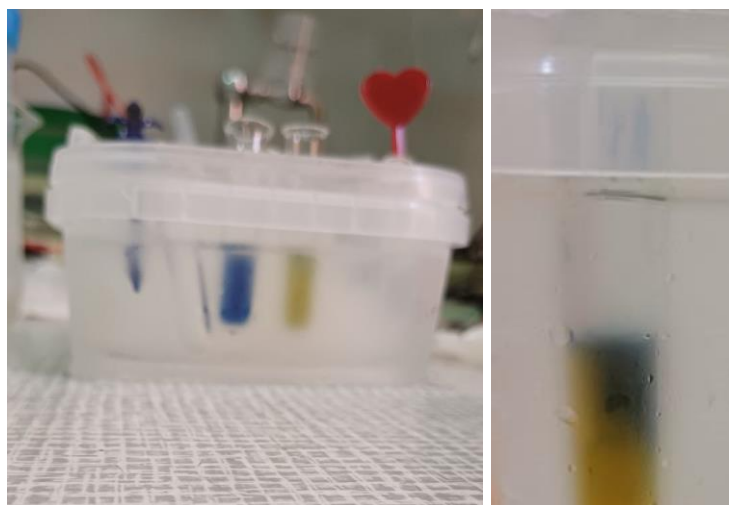


Рисунок 2.16 – Зміни забарвлення у зразках з білком

Реєстрували час необхідний для зміни з синього кольору розчину на жовтий (точка переходу бромтимолового синього становить в діапазоні рН 6...7,6). Показано зміну забарвлення на рисунку 2.17.



Рисунок 2.17 - Успішна зміна забарвлення

Далі розраховували швидкість реакції в одиницях Вілбура-Андерсона за формулою:

$$WAU = (T_0 - T) : T, \quad (2.5)$$

де  $T_0$  – це час у секундах, який необхідний змінення забарвлення розчину до некаталітичного стану реакції;

$T$  – час у каталітичній реакції

Здійснили дослідження термостабільності білку за різних умов для досліджуваного рослинного білку. Забезпечується стабільність температури за допомогою термостату, підтримували встановлену температуру.

У термостаті зразки перебували різний часовий проміжок та при різній температурі, також витримували рослинний білок з додаванням 20% гліцерину та без гліцерину, зображено на рисунку.

Далі через певний час проводили КА, у буферному розчині з білком відміряючи для дослідів по 20 *мкг* білку.

Для приготування ТРИС буферного розчину концентрацією 25 *мМ*, розчин об'ємом 250 *мл* необхідно визначивши молярну масу, за формулою:

$$m = C \cdot M \cdot V, \quad (2.6)$$

де *C* – загальна концентрація розчину (*моль/мл*);

*M* – молярна маса (*г/моль*);

*V* – загальний об'єм розчину (*мл*).

Відповідно необхідно врахувати молярну масу:  $M(\text{Tris-Sq}) = 121,14 \text{ г/моль}^{45}$ :

Визначаємо необхідну масу для приготування буферного розчину:

$$m = 121,14 \cdot 0,25 \text{ мМ} \cdot 0,025 \text{ л} = 0,76 \text{ г} (\text{Tris-Sq})$$

У колбу на 500 *мл*, використовуючи ваги, де відміряють 0,76 *г*, додають необхідну кількість Tris-Sq.

Потім перемішують з дистильованою водою, до повного розчинення. Готовий розчин перевіряють приладами, перевіряючи за допомогою рН-метра, а потім для досягнення необхідного рН-8,3 за необхідності підкислюють, тобто знижують рН, доводячи занадто лужний розчин до необхідного рівня, використовуючи сірчану кислоту ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ).

Для отримання буферного розчину ТРИС із концентрацією 1 *М*, а також враховуючи об'єм на 150 *мл*, необхідно<sup>45</sup>:

$$m = 121,14 \cdot 1 \text{ М} \cdot 0,015 \text{ л} = 1,82 \text{ г} (\text{Tris-Sq})$$

Приготування буферного розчину  $\text{CaCl}_2$  концентрацією 20 *мМ*, розчин об'ємом колби 150 *мл*, враховуючи  $M(\text{CaCl}_2) = 110,98 \text{ г/моль}$  необхідно взяти речовини<sup>45</sup>:

$$m = 110,98 \cdot 0,02 \cdot 0,025 \text{ л} = 0,11 \text{ г} (\text{CaCl}_2)$$

У колбі змішують ТРИС та буферного розчину  $\text{CaCl}_2$  для отримання трьох різних необхідного рН-8,5; рН-9,5; рН-11, для зниження рН до розчину використовують сірчану кислоту ( $\text{H}_2\text{SO}_4$ ), для збільшення рН використовували гідроксид натрію ( $\text{NaOH}$ ). Процес досягнення потрібної концентрації, а саме рН 8,3, здійснений завдяки методу рН-метрії буферного розчину ТРИС.

### **2.2.7 Метод секвестрації діоксиду карбону з рослинних білкових фракцій**

Для проведення секвестрації діоксиду карбону використовували біологічний катализатор за методикою *Favre*.<sup>46</sup>

Секвестрацію діоксиду вуглецю у карбонат кальцію ( $\text{CaCO}_3$ ) виконували з використанням цілих клітин як катализатор, а осадження  $\text{CaCO}_3$  контролювали турбодинамічно за допомогою спектрофотометра UV-1100 за довжини хвилі 600 нм.

Даний прилад має властивості спектрального оптичного призначення, тому його використовують для вимірювання необхідного коефіцієнта пропускання, обчислення оптичної щільності досліджуваних твердих та рідких проб під час проведення різного роду аналізів. Спочатку обирали потрібну хвилю вимірювання, потім вимірювали контроль., тобто пробу без білку, а далі у сусідню пусту кювету додавали у зразок, воду насичену  $\text{CO}_2$  та залежно від дослідження, різного рН попередньо приготовані буферні розчини.

Основною метою дослідження відповідно обраним методикам є створення ефективної технології уловлювання діоксиду карбону та можливістю його далі у перетвореному за допомогою ферменту КА стан стабільного твердого карбонату, з можливим подальшим зберіганням чи перетворенням.<sup>46</sup>

У якості буфера змішували 500 мкл води, насиченої  $\text{CO}_2$  додавали до реакційної кювети, яка містила 450 мкл буфера (1 М ТРИС, 20 мМ  $\text{CaCl}_2$  (рН 8,5; 9,5 ; 11) ) та 50 мкл ТРИС сульфатного буфера (рН 8,3), ретельно перемішувати кювету і закривали пластиковою кришкою для запобігання витоку  $\text{CO}_2$ , готували за температури + 25°C (+2 °C), а реакцію проводили за температури +37 °C. Попередньо готували буферні

розчини: суміш ТРИС та буферного розчину  $\text{CaCl}_2$  з різними рН рівнем. Далі реєстрували час необхідний для початку випадання осаду, його середня швидкість поглинання перевищувала 0,001 А 600 нм/с.

Випадіння осаду в залежності від різного рН буферного розчину, зображено на рисунках: 2.18, 2.19, 2.20.

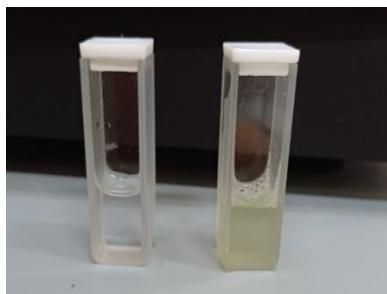


Рисунок 2.18 – Осад при  $\text{CaCO}_3$  (рН 8,5)

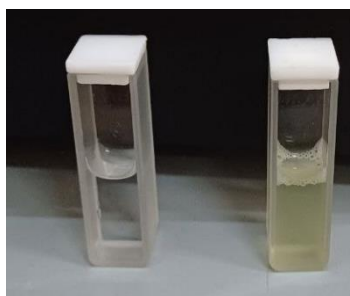


Рисунок 2.19 – Випадіння осаду  $\text{CaCO}_3$  у рН 9,5



Рисунок 2.20 – Осад карбонату кальцію при рН 11

Після виявлення осаду (кювета праворуч, з жовтим відтінком) для порівняння використовували криві поглинання для якісно аналізу результатів.

Використовують різні методи, котрі спрямовані на розділення мембран, тоді рідкі мембрани з амінами або ферментами КА, а також адсорбція на твердих речовинах чи пряма реакція, в якості мінералів. Нині одним із найбільш вивчених методів є зберігання у вигляді газу під високим тиском діоксиду карбону, у геологічних формах наприклад в ємностях, які розташовані в океані. Також можна використовувати, поглинутий діоксид вуглець у формі субстрату, для подальшого синтезу цінних хімічних речовин.

Дослідження спрямоване зокрема на можливостях застосування ферменту КА у водному розчині. Цей фермент каталізує реакції між молекулами  $\text{CO}_2$  у розчині та аніонами  $\text{HCO}_3^-$ , що є важливими для організму, зокрема людини в нейтральних умовах. Він надзвичайно вибірковий і може ефективно відокремлювати діоксид вуглецю від суміші інших газів у розчинених мембранах. Цю технологію розроблено NASA. Крім того мембрани з ферментом КА працюють швидше, ніж аналогічні мембрани з амінами, оскільки обмежувальним фактором граничного кроку швидкості є дифузія аніонів  $\text{HCO}_3^-$  через мембрану.

## РОЗДІЛ 3

### ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

#### 3.1 Дослідження будови та фотосинтетичний аналіз дикорослої рослини *Atriplex sagittata*

В лабораторії за допомогою світлового мікроскопу досліджували рослинний зразок *Atriplex Sagitatta* без фіксування, вивчали адаксіальну та абаксіальну поверхні листової пластинки. Результати показані на рисунку 3.1.

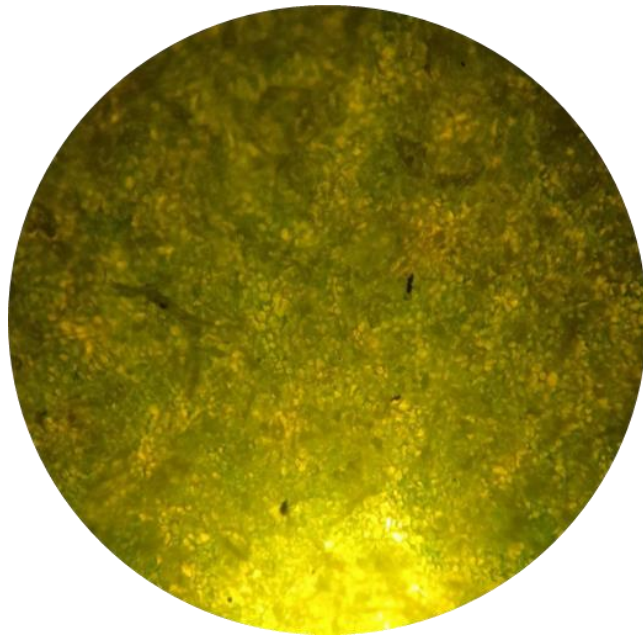


Рисунок 3.1 – Поверхня листку лутиги блискучої

На поверхні листка спостерігаємо клітини зеленого кольору, наявний епідерміс із нерівними контурами, які прилягають щільно та утворюють суцільний покрив продихових клітин. Наявні на поверхні листка продихи овальної форми, забезпечують для рослини регуляцію газообміну.

Для визначення рівня пристосованості культури *A. sagittata* до природних умов здійснили фотосинтетичну характеристику. Кількість пігменту та вміст білку, тісно пов'язані між собою, тому що допомагають визначити витривалість рослини, відповідно до результатів наведених в таблиці 3.1.

Таблиця 3.1 – Загальна фотосинтетична характеристика рослинної культури *Atriplex sagittata*

Сировина	Загальний вміст білку	Хлорофіл <i>a</i>	Хлорофіл <i>b</i>	Каротиноїди
	<i>мг/мл</i>	<i>мг/г</i>		
Листкова фракція	2,25 ± 0,25	14,2 ± 1,08	3,31 ± 0,24	3,02 ± 0,27

Проаналізовано та виявлено тенденцію збільшення кількості хлорофілу *a* вказує на втрати зеленого пігменту, що притаманно осінній порі року. Через постійні процеси руйнування та синтезу хлорофілу, за умов стресового стану рослини, відбувається швидка деградація хлорофілу *b* та в результаті зростання пігментного індексу, підвищений рівень каротиноїдів. Також у дослідженні виявили високий загальний вміст білку, який під час стресового періоду рослини, допомагає їй запасати енергію та приймати участь у каталізуючих хімічних реакціях.

### 3.2 Дослідження поглинання діоксиду вуглецю за допомогою рослинної карбоангідрази у білковій фракції лутиги блискучої

У експерименті відповідно зазначеним методикам досліджували гідратації діоксиду карбону, вивчали активність ферменту карбоангідрази для подальшої перевірки швидкості поглинання, парникового газу. Під час застосування наукових методів проводили моніторинг швидкості зміни рН через каталітичну реакцію відбувається перетворення діоксиду вуглецю за умови температури 0°C на бікарбонат.

Активність КА білковій фракції, яка була ізольована з листків лутиги блискучої, у першій частині експерименту, вимірювали активність при охолодженні білку, води насиченої CO<sub>2</sub>, буферного розчину ТРИС з доданим індикатором, постійно підтримуючи температуру 0°C.

Швидкість перетворення діоксиду карбону за цих умов, що представлено на

рисунку 3.2, зростала з часом протягом двох хвилин вимірювання.

Встановлено, що за умови додавання до білку рослини 20 % гліцерину, висока КА зберігалася при заморожуванні та розморожуванні препарату. Цей показник є важливим для багаторазового використання ензиму в циклах секвестрування.

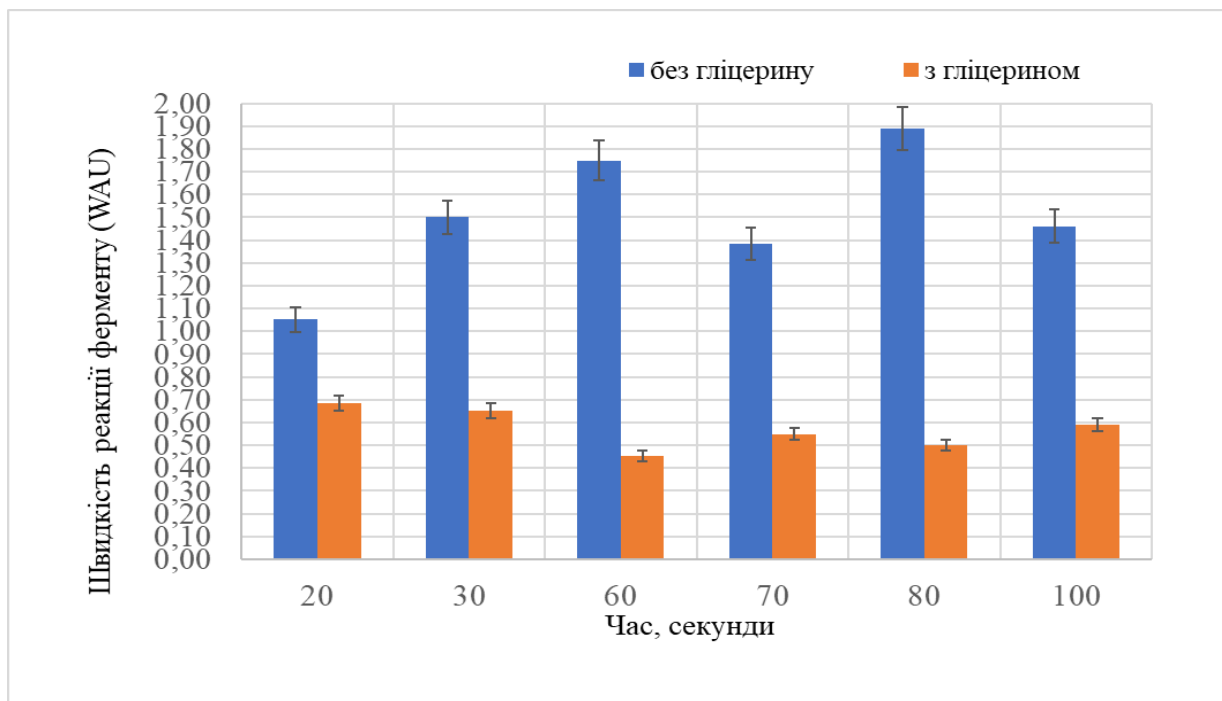


Рисунок 3.2 – Діаграма карбоангідразної активності у рослинному білку при температурі 0°C

Для визначення стійкості препарату до підвищення температури зразки фракції загальних білків, ізольованих з листків лутиги блискучої, витримували у термостаті протягом різного часу і за різних температур.

Визначали також протекторну дію гліцерину на ензиматичну активність препаратів при підвищених температурах. Визначали КА активність після інкубації білку за температури 30 °C у термостаті, без гліцерину після 6 годин. Після 20 годин інкубації білка з додаванням гліцерину КА активність білку залишалася дуже високою, а це можна спостерігати на рисунку 3.3.

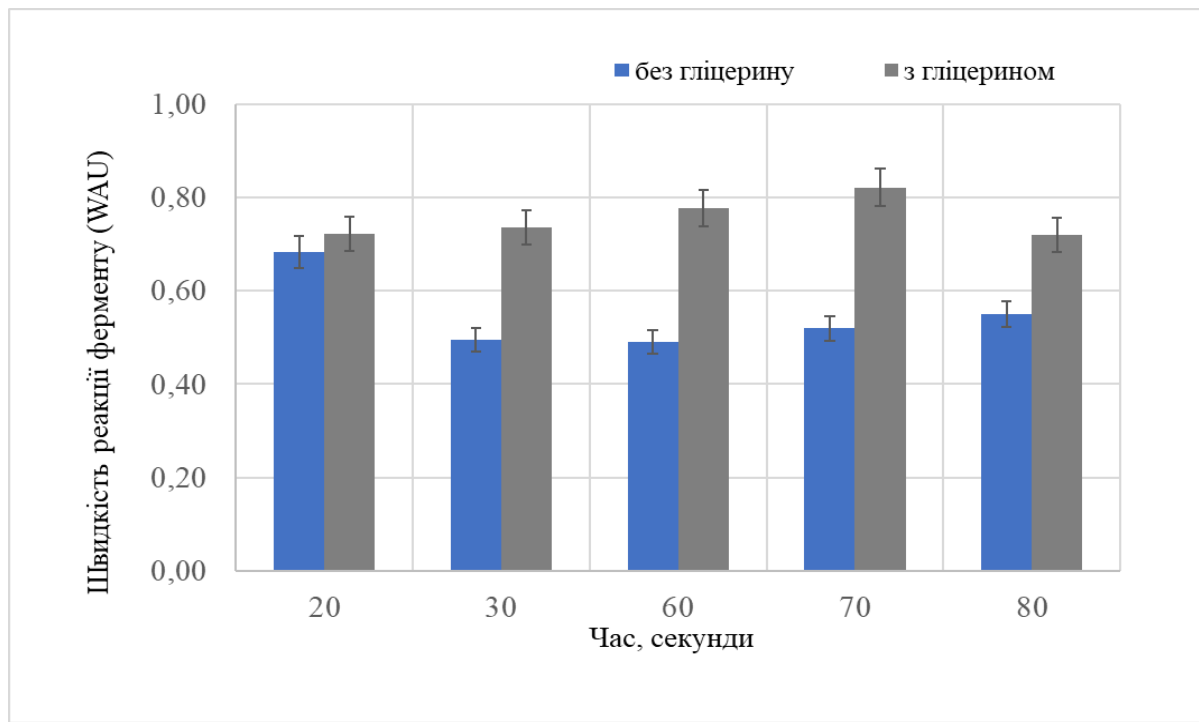


Рисунок 3.3 – Діаграма активності ферменту зразків витриманих за температури 30 °С

Декілька зразків без гліцерину з однаковою концентрацією білку поставили в умовах підтримки постійного температурно режимк, а саме 40°С, один зразок до 20 годин, а другий зразок до 93 години перебували у термостаті. Після 20 годин інкубації при 40°С КА активність зберігалася на високому рівні.

При більш тривалому інкубуванні відповідно означеної температурі зразок втрачав ензиматичну активність. Додавання гліцерину до білку лутиги блискучої у концентрації 20 % сприяло збереженню ензиматичної активності за підвищеної до 40 °С температури. Результати даного експерименту представлені на рисунку 3.4.

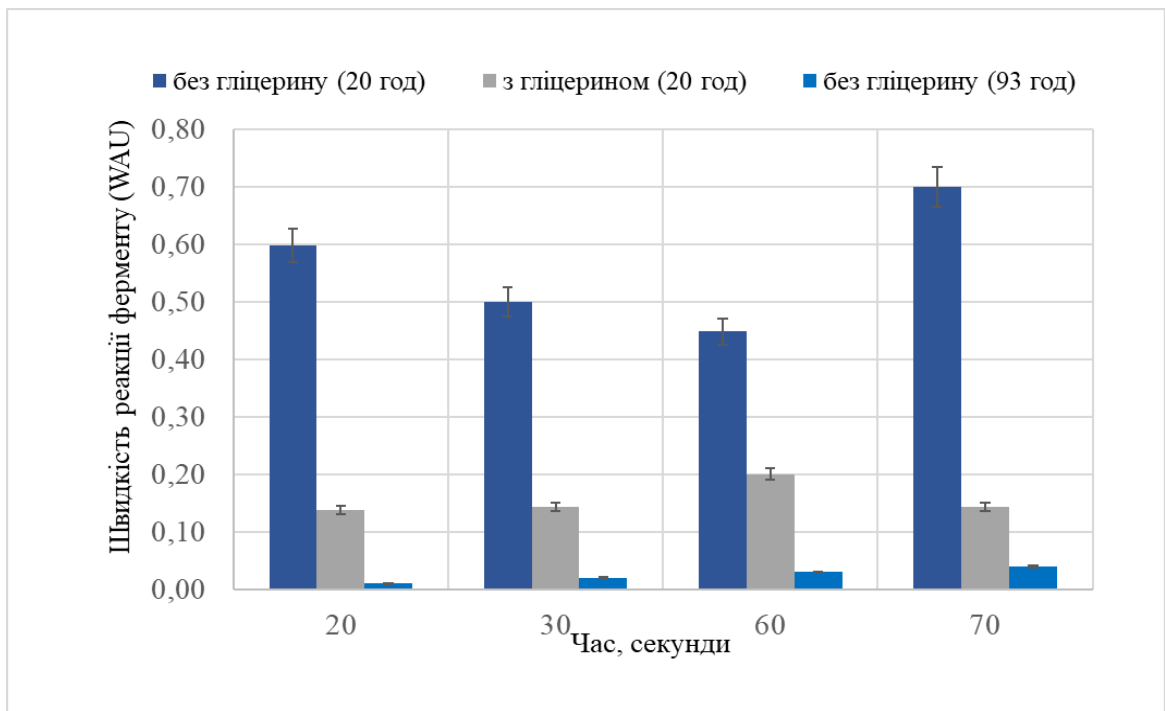


Рисунок 3.4 – Діаграма порівняння зразків витриманих у термостаті за температури 40°C

Встановлено, що КА активність зберігалася після перебування зразків у термостаті при температурі 50° С, протягом 2 годин, зображено на рисунку 3.5. При більш тривалому, а саме інкубуванні до 20 годин зразків за цього температурного режиму спостерігали, що карбоангідразна активність втрачалася навіть незалежно від додавання гліцерину.

Виявили в даному експерименті гліцерин не виявив захисної дії для білку за цих умов. Вплив високої температури демонстрував денатурацію білку, що в результаті змінило його структуру, а отже вплинув на ферментативну здатність карбоангідрази рослинного білку.

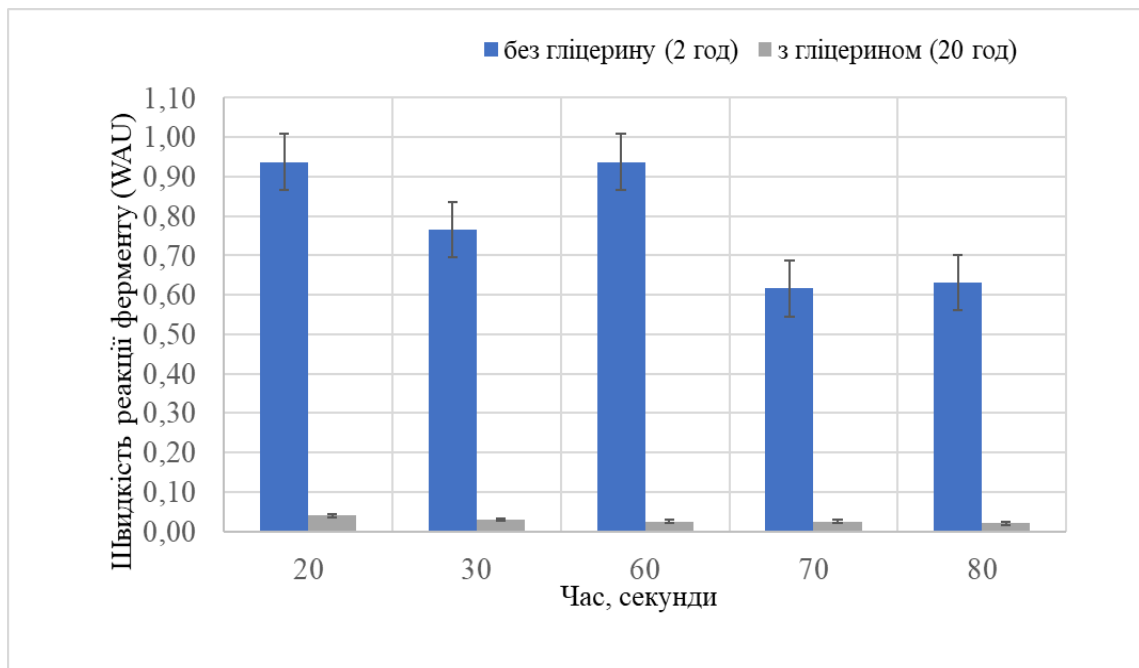


Рисунок 3.5 – Діаграма КА білку за температури 50°C

Прогрівання зразків до 60°C в термостаті, протягом часу до 2 годин, призводило до повної втрати КА активності, показано на рисунку 3.6, незалежно від наявності гліцерину як протектора, тому унеможлиблює за такої температури використання ферменту для поглинання діоксиду карбону.

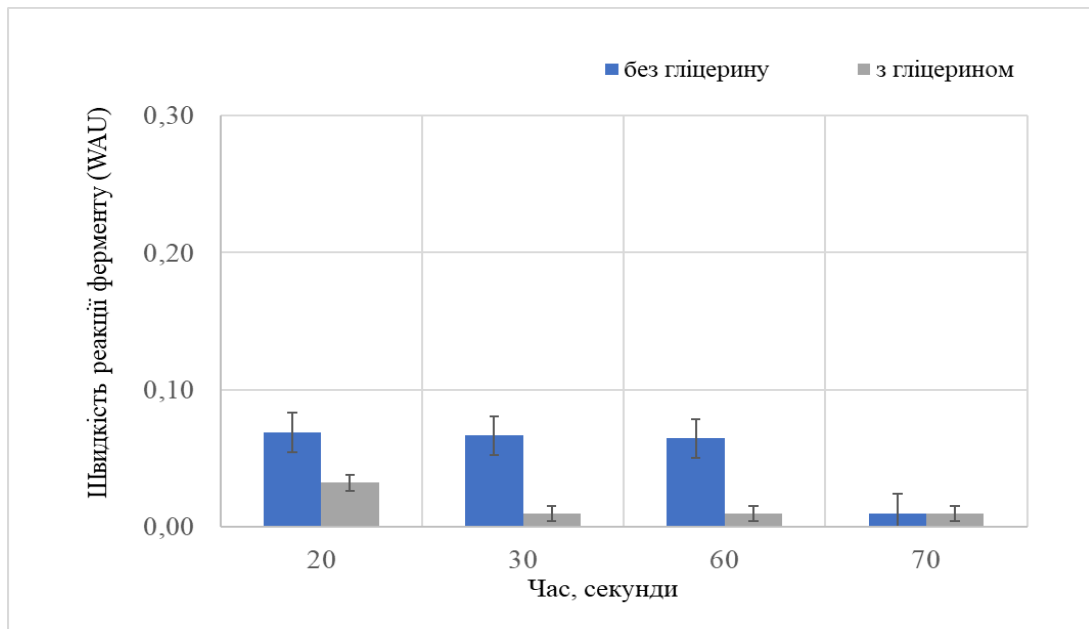


Рисунок 3.6 – Графік визначення КА (у термостаті при 60 °C)

Оптимальним температурним діапазоном, в ході експерименту вищим за 0°C, при якому спостерігалось стабільна КА активність у білкових препаратах без додавання будь-яких стабілізаторів виявили температури від 0°C до 50°C, показано на рисунку 3.7.

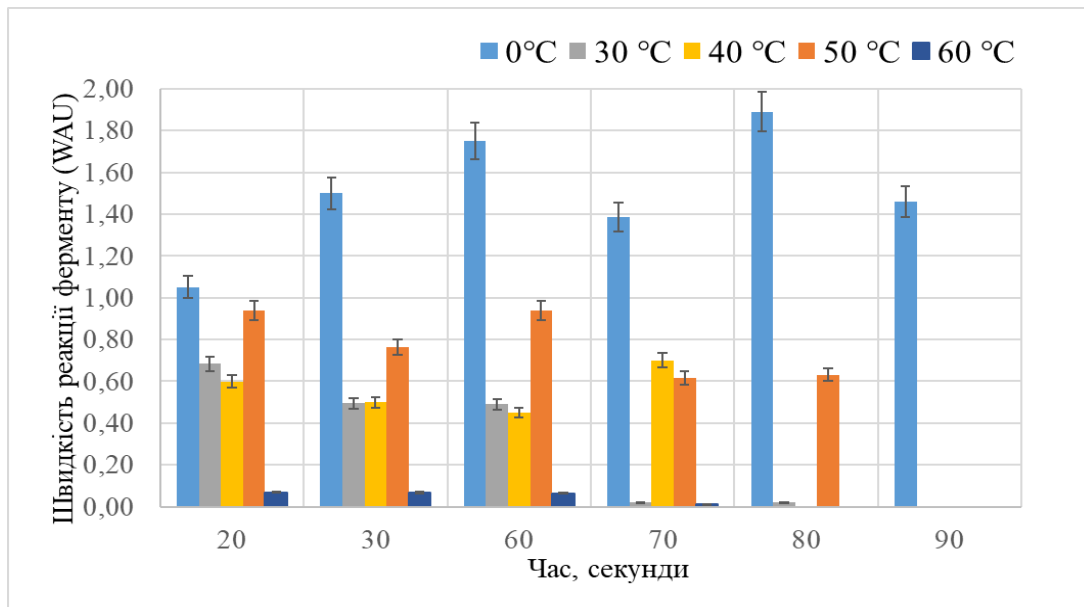


Рисунок 3.7 – Вплив температури на карбоангідразну активність, без гліцерину

Активність та ефективність поглинання діоксиду вуглецю ферментом, при додаванні до білку 20% гліцерину зберігається, лише за температури від 0°C та 40°C, спостерігаємо на рисунку 3.8.

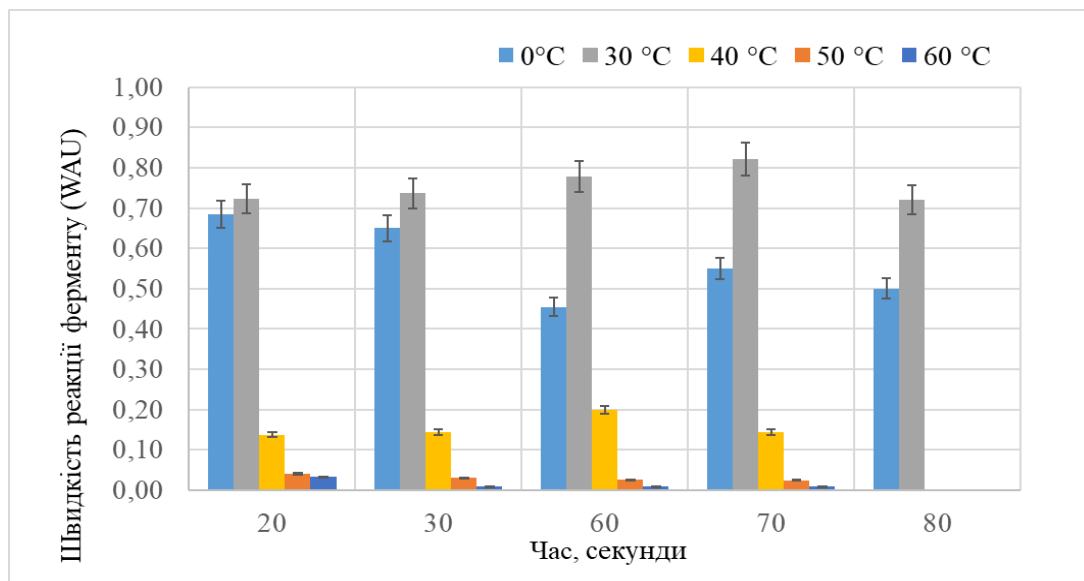


Рисунок 3.8 – Вплив температури на карбоангідразну активність, з гліцерином

За допомогою критеріїв Стьюдента та кореляційний коефіцієнт Пірсона між величинами, які дослідили виявляємо наступну закономірність показану у таблиці номер 3.2.

Таблиця 3.2 – Статистичний аналіз отриманих результатів визначення карбоангідразної активності ферменту

Температура	T-test value, p	Pearson's Correlation Test, r
0°C	0,02	0,9
30°C	0,01	0,3
40°C	0,01	0,9
50°C	0,01	0,3
60°C	0,04	0,7

В результаті здійсненого t-тесту, всі досліджені температури менші від загально прийнятого значущого рівня,  $p < 0,05$ .<sup>49</sup>

Тесту, що показники є статистично значущими. Тому карбоангідразна активність ферменту при температурах вищих за 0°C, відрізняється кінцевий результат та при цьому підтверджується зв'язок між впливом умов на результат активності ферменту.

Коефіцієнт кореляції вирахований за Пірсоном, вказує на імовірність зв'язку та особливий тим, що до кожного значення однієї змінної має відповідати множина інших значень щодо іншої змінної та рахується як сила лінійного зв'язку, коли значення кореляції ближче до -1 або 1.<sup>49</sup>

У всіх дослідженнях коефіцієнт дорівнює від 0,3 до 0,9. Значення коефіцієнту кореляції наближені до 1, а це означає про сильний зв'язок між пробами за однієї температури, де відсутній та міститься гліцерин. Тобто 0°C за температури при збільшенні швидкості реакції, завдяки додаванню гліцерину, відбувається подібний характер реакції ферменту та схожий результат, не залежно від доданого гліцерину.

Порівнюючи за однакової температури зразки де відсутній та з вмістом гліцерину, у зразках ми спостерігаємо, що гліцерин допомагає зберегти КА активність, показано на рисунку 3.9.

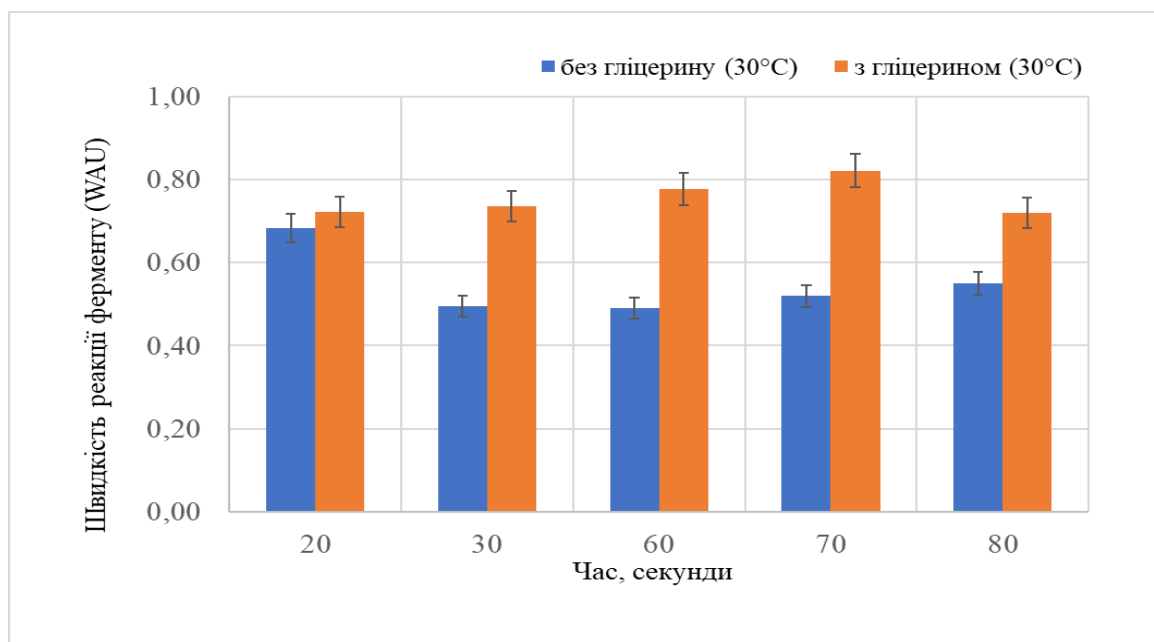


Рисунок 3.9 – Порівняння КА активності 30°C (без внесення гліцерину та з додаванням 20 % гліцерину).

За умови температурного режиму у 30°C дана температура є наближеною до оптимальної для даного рослинного ферменту. Виявили, що в однакових концентраціях білку, навіть без додавання 20% гліцерину, КА активність залишається, тому дана температура сприятлива для активності ферменту.

Додавши гліцерин за цієї температури ми отримали найбільшу стабільність ферменту враховуючи вибраний температурний режим, а також в кінці експерименту не спостерігали денатурації білку. За цієї температури фермент карбоангідраза продовжує ефективну каталізуючу реакцію із CO<sub>2</sub>.

Дослідження рослинного білку *A. sagittata* дозволяє визначити при яких температурах КА активність залишається найкращою, тому за отриманими результатами ефективно поглинання білковим препаратом може бути запропоновано для майбутнього розроблення технології спрямованої поглинати діоксид вуглецю і використовувати для різних галузей.

Для виявлення найкращих умов для застосування механізму уловлювання ферментом діоксиду вуглецю необхідно дослідити оптимальні умови для середовища, щоб отримати ефективне поглинання діоксиду карбону. У процесі дослідження секвестрації діоксиду вуглецю ігнорованим рослинним білком, забезпечення ефективного поглинання парникового газу є утворення стабільної мінеральної форми речовини.

Після додавання буферного розчину з різним рН середовищем, досліджували пов'язану з часом кінетику утворення кальциту, реакцію проводили при температурному режимі 37 °С, що зображено на рисунку 3.10.

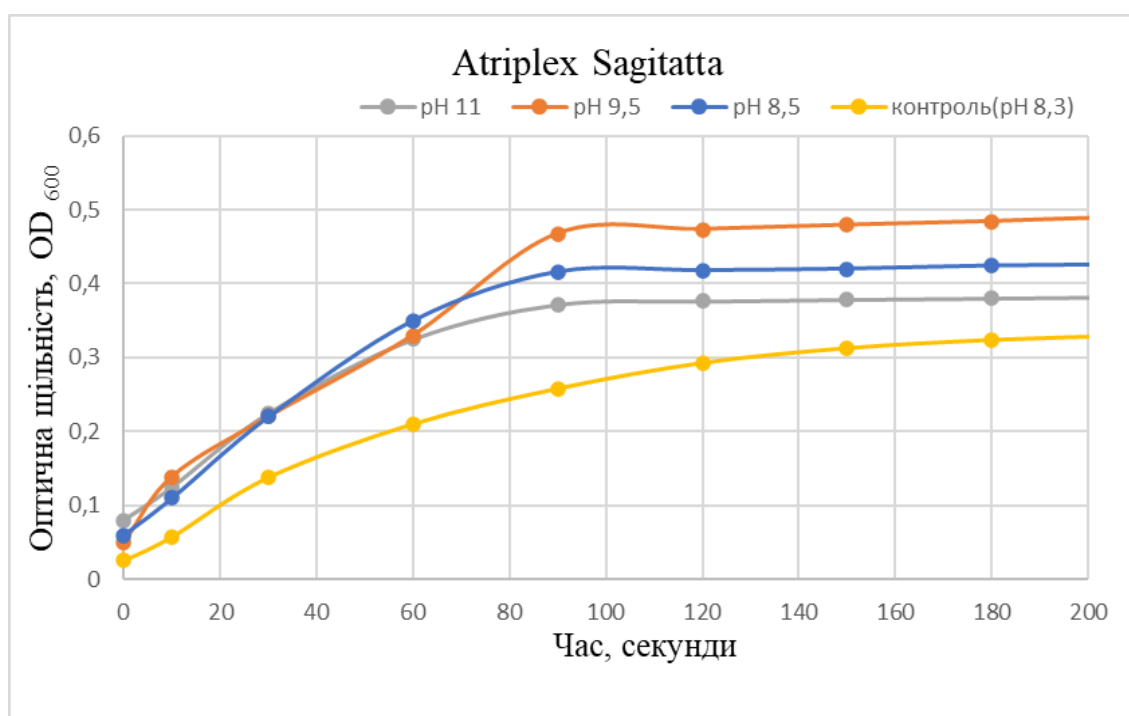


Рисунок 3.10 – Динаміка утворення осаду CaCO<sub>3</sub> при додаванні білкового препарату карбоангідрази при різних рН

Спостерігається зниження активності ферменту, зокрема у зразку з середовищем рН 11, було швидше в порівнянні з іншими рН випадіння в осад. У інших зразків простежується успішність та ефективно прискорення щодо поглинання діоксиду карбону з утворенням карбонату кальцію, без великої втрати активності ферменту. Особливо при секвестрації рН 11 здатність до поглинання вище на 20%, в порівнянні зі зразком де рН 9,5.

У дослідженні команди науковців та вченого *Chafik* щодо активності карбоангідрази тваринного білка, вони зафіксували збереження максимальної активності ферменту з оптимальним значенням рН 9,0. Отримали такі результати, тому що у печінці верблюда вищий рН у порівнянні з іншими ссавцями.<sup>48</sup>

Під час аналізу перевірки гіпотези щодо кращого середовища для більшої активності рослинної КА, отриманих результатів застосували кореляційний аналіз, вказано результати у таблиці 3.3.

Таблиця 3.3 – Аналіз даних результатів дослідження секвестрації

рН середовища	Pearson's Correlation Test
8,5 та 9,5	0,99
8,5 та 11	0,70
9,5 та 11	0,71

Під час аналізу отриманих результатів після методу секвестрації, для даних застосували кореляційний аналіз. Він показав між даними, оптичної щільності у відповідності до рН 8,5 та рН 9,5 застосовуючи коефіцієнт кореляції Пірсона у результаті коефіцієнт становив 0,98. Отримане значення свідчить, що зміни в одному значенні рН пропорційні до змін другого середовища, тобто при збільшенні одного показника значення у іншого також зростають. Висока кореляція свідчить про стабільність цих середовищ.

При досліджених рН осад, який у вигляді карбонат кальцію утворився можна застосувати, попередньо видаливши із суміші, для подальшого використання у промислових цілях, сільському господарстві, будівництві, зокрема додавати під час виготовлення штучного каменю, сантехніки, цементу, бетонних сумішей тощо.

Одним із перспективних способів застосування вивченого рослинного карбоангідразного ферменту, використовуючи у системах очищення повітря від CO<sub>2</sub>, зокрема у громадських спорудах, приміщеннях з постійним перебуванням у місцях великого скупчення людей, а саме у торговому розважальних центрах, супермаркетах, найпростішого типу укриттів.

## ВИСНОВКИ

1. Проведений аналіз різних наукових джерел щодо будови та корисних властивостей лутиги блискучої, визначено ареал рослин та наведена детальна характеристика рослинного об'єкту.

2. Визначена карбоангідразна активність білкової фракції, ізольованої з листової фракції лутиги блискучої. Вивчена температурна залежність та рівень активності карбоангідрازی. Встановлено протекторний ефект гліцерину на карбоангідразну активність *Atriplex Sagittata* при підвищенні температури.

3. За температури від 0°C і до 40°C активність ферменту зберігається. Від 50°C, при тривалому інкубуванні зразків, карбоангідразна активність зменшується, а температура 60°C повністю призводить до втрати активності ферменту, навіть за умови додавання до зразку 20% гліцерину.

4. Результати секвестрації діоксиду карбону і перетворення у в карбонат кальцію за допомогою рослинної карбоангідрازی показали, що збереження ферментної активності становить найбільше для рН 9,5 близько 70% та для рН 8,5 близько 60% ефективності. Отже, з біохімічної точки зору карбоангідразна активність може бути стабільною при лужному середовищі (рН 8,5 до 9,5), але сильно лужне середовище (рН 11) погіршує активність ферменту та його здатність до поглинання діоксиду вуглецю.

5. Досліджено, що карбоангідразна активність, у білку лутиги блискучої, ефективно стимулює утворення карбонату кальцію в розчинах з високим вмістом CO<sub>2</sub>. Осад який може утворитися, а саме кальцит можна застосувати у будівельній, металургійній промисловості. Таким чином, білковий препарат, в якому міститься фермент карбоангідрازی, ізольований з листя лутиги, може бути використаний, як рослинний абсорбент в технологіях для вилучення діоксиду карбону з газових викидів, що допоможе запобігти подальшим критичним кліматичним змінам.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

- <sup>1</sup> Leonel, J. R. N. The Rising Threat of Atmospheric CO<sub>2</sub>: A Review on the Causes, Impacts, and Mitigation Strategies. *Environments Journal* [Online]. **2023**, *10* (4), 66. <https://doi.org/10.3390/environments10040066> (дата звернення Жовт 4, 2024).
- <sup>2</sup> Terrer, C.; Vicca, S; Stocker, B.; Hungate, B.; Phillips, R.; Reich, P. ; Finzi, A. ; Prentice, C. Ecosystem responses to elevated CO<sub>2</sub> governed by plant–soil interactions and the cost of nitrogen acquisition [Online]. **2017**; *11* (4). <https://doi.org/10.1111/nph.14872> (а дата звернення Жовт 5, 2024).
- <sup>3</sup> Malhi, Y.; Franklin, J.; Seddon, N.; Solan, M.; Turner, M. G.; Field, Chr. B.; Knowlton, N. Climate change and ecosystems: threats, opportunities and solutions [Online]. **2020**; *10* (10) <https://doi.org/10.1098/rstb.2019.0104> (дата звернення Жовт 7, 2024).
- <sup>4</sup> IQ Air Staff Writers. Carbon dioxide. [https://www.iqair.com/newsroom/carbon-dioxide?srsltid=AfmBOoqUXs\\_WIc\\_Fbdk3qx1BvgDuxEfEJBdO9IkdfzEWIFNypHLCc\\_W-E](https://www.iqair.com/newsroom/carbon-dioxide?srsltid=AfmBOoqUXs_WIc_Fbdk3qx1BvgDuxEfEJBdO9IkdfzEWIFNypHLCc_W-E) (дата звернення Жовт 8, 2024).
- <sup>5</sup> Громадська організація «Центр екологічних ініціатив «ЕКОДІЯ». Як CO<sub>2</sub> в атмосфері губить морське життя та інші важливі факти про закислення океанів. <https://ecoaction.org.ua/co2-i-fakty-pro-zakyslennia-okeaniv.html> (дата звернення Жовт 19, 2024)
- <sup>6</sup> «Eco Technology». Екологія та навколишнє середовище. Вміст вуглекислого газу в атмосфері став рекордним за останні 23 мільйони років. <https://ecotech.news/ecology/926-vmist-vuglekislogo-gazu-v-atmosferi-stav-rekordnim-za-ostanni-23-miljoni-rokiv.html> (дата звернення Жовт 10, 2024)
- <sup>7</sup> Washington, DC. World Resources Institute, 2022. Climate Watch Historical GHG Emissions. [https://www.climatewatchdata.org/ghg-emissions?chartType=area&end\\_year=2021&gases=co2&regions=UKR&start\\_year=1990](https://www.climatewatchdata.org/ghg-emissions?chartType=area&end_year=2021&gases=co2&regions=UKR&start_year=1990) (дата звернення Жовт 11, 2024)
- <sup>8</sup> Rob Boyle. Greenhouse Gas Emissions in Ukraine. Overview of greenhouse gases and

emissions per capita in Ukraine. Are they prepared to meet net zero targets and invest in the energy transition? <https://www.emission-index.com/countries/ukraine>

(дата звернення Жовт 12, 2024)

<sup>9</sup> Reference CO<sub>2</sub> emission calculation approach. Comparison of sectoral and reference approaches. *Ukraine's greenhouse gas inventory 1990-2021 (draft)*; Annual National Inventory Report for Submission under the United Nations Framework Convention on Climate Change and the Kyoto Protocol; trends in greenhouse gas emissions; [Online]; MEPRU: Kyiv, 2023; pp 50-10. [https://mepr.gov.ua/wp-content/uploads/2023/03/Kadastr\\_2023.pdf](https://mepr.gov.ua/wp-content/uploads/2023/03/Kadastr_2023.pdf) (дата звернення Жовт 13, 2024).

<sup>10</sup> Lennard de Klerk (lead author). December 2023. Climate damage caused by russia's war in Ukraine in 18 months by Initiative on GHG accounting of war. [https://en.ecoaction.org.ua/wp-content/uploads/2023/12/20231201\\_ClimateDamageWarUkraine18monthsEN\\_1.pdf](https://en.ecoaction.org.ua/wp-content/uploads/2023/12/20231201_ClimateDamageWarUkraine18monthsEN_1.pdf) (дата звернення Жовт 15, 2024).

<sup>11</sup> Dudnyk, O.; Dunayevska, N.; Sokolovska, I.; Tripol'skii, A. CO<sub>2</sub> production, purification and utilization in the processes of power generation and chemical production. [Online]. 2020; pp 46-55.

[https://www.researchgate.net/publication/348909178\\_Oderzanna\\_ocisenna\\_ta\\_utilizacia\\_v\\_uglekislogo\\_gazu\\_v\\_procesah\\_virobnictva\\_energii\\_ta\\_himicnih\\_produktiv\\_CO2\\_production\\_purification\\_and\\_utilization\\_in\\_the\\_processes\\_of\\_power\\_generation\\_and\\_chemical\\_production](https://www.researchgate.net/publication/348909178_Oderzanna_ocisenna_ta_utilizacia_v_uglekislogo_gazu_v_procesah_virobnictva_energii_ta_himicnih_produktiv_CO2_production_purification_and_utilization_in_the_processes_of_power_generation_and_chemical_production) (accessed Oct 16, 2024).

<sup>12</sup> Kelly, Sc.; Virts, T.; Let's Talk Science. Chemistry, Earth Science, Health, Space Science, Space exploration, Technology & Engineering; Carbon Dioxide on Earth and on the ISS. [Online] 2019, NASA, Wikimedia Commons: USA.

<https://letstalkscience.ca/educational-resources/backgrounders/carbon-dioxide-on-earth-and-on-iss> (accessed Oct 17, 2024).

<sup>13</sup> The California Air Resources Board is one of six boards, departments, and offices under the umbrella of the California Environmental Protection Agency. Air Cleaning Devices for

the Home. <https://ww2.arb.ca.gov/resources/fact-sheets/air-cleaning-devices-home> (дата звернення Жовт 18, 2024).

<sup>14</sup> CNBCTV18. Using tech to suck carbon dioxide from atmosphere, explained <https://www.cnbctv18.com/environment/using-tech-to-suck-carbon-dioxide-from-atmosphere-explained-10530871.htm> (дата звернення Жовт 19, 2024).

<sup>15</sup> Sebastian Jutzi,. Effectively removing carbon dioxide from the atmosphere. <https://phys.org/news/2021-08-effectively-carbon-dioxide-atmosphere.html> (accessed Oct 20, 2024).

<sup>16</sup> WWF Природноорієнтовані рішення. Алейне землеробство. <https://nbs.wwf.ua/methodology/alejne-zemlerobstvo/> (дата звернення Жовт 21,2024)

<sup>17</sup> Wuebbles, D.J.; Jain, A.K. Concerns about climate change and the role of fossil fuel use. *Fuel Process. Technol.* **2001**, *71*, pp 99–119. [https://doi.org/10.1016/S0378-3820\(01\)00139-4](https://doi.org/10.1016/S0378-3820(01)00139-4) (дата звернення Жовт 21, 2024).

<sup>18</sup> Meinshausen, M.; Smith, S.; Calvin, K.; Daniel, J.; Kainuma, M.; Lamarque, J.; Matsumoto, K.; Montzka, S.; Raper, S.; Riahi, K.; The RCP greenhouse gas concentrations and their extensions from 1765 to 2300. *Clim. Chang.* **2011**, *109*, pp 213–241. <https://doi.org/10.1007/s10584-011-0156-z> (accessed Oct 22, 2024).

<sup>19</sup> The Calvin cycle is the metabolic pathway of CO<sub>2</sub> capture and conversion of sugars that takes place in the stroma of the chloroplast, Agricultural and Biological Sciences. *Journal of Photochemistry and Photobiology. B: Biology*, **2015** , *24* , pp 466 - 487

<sup>20</sup> College Biology. The Calvin Cycle. <https://slcc.pressbooks.pub/collegebiology1/chapter/the-calvin-cycle/> (accessed Oct 23, 2024).

<sup>21</sup> Adamu, A., Russo-Abegão, F.; Boodhoo, K. Process intensification technologies for CO<sub>2</sub> capture and conversion – a review. *BMC Chem Eng.* **2020**, *2*. <https://doi.org/10.1186/s42480-019-0026-4> (accessed Oct 25, 2024).

<sup>22</sup> National Geographic Encyclopedic Entry. Open Educational Resources. Photosynthesis <https://education.nationalgeographic.org/resource/photosynthesis/> (accessed Oct 26 2024).

- <sup>23</sup> Escudero-almanza, D.; Jacqueline Carbonic Anhydrase and Zinc in Plant Physiology. Chilean J. Agric. Res. [Online]. **2012**, vol.72(1), 0718-5839, pp 140-146. <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-58392012000100022>(дата звернення Жовт 26, 2024).
- <sup>24</sup> Wei-Hong, Wu Yan, Sun Zhen-Zhen, Wu Qiu-Xia, Wen Xin-Yu Characteristics of Higher Plant Carbonic Anhydrase and Its Role in Photosynthesis. Jiangsu University, Zhenjiang, College of Food and Biological Engineering, Jiangsu University, Zhenjiang, *Journal of Plant Studies*. Hong, China [Online] **2014**, 1927-0461, vol. 3(2), 39. <http://dx.doi.org/10.5539/jps.v3n2p39> (дата звернення Жовт 27, 2024).
- <sup>25</sup> Williams, G.; Flanagan, L.; Coleman J. Plant Physiol Photosynthetic Gas Exchange and Discrimination against  $^{13}\text{CO}_2$  and  $\text{C}^{18}\text{O}^{16}\text{O}$  in Tobacco Plants Modified by an Antisense Construct to Have Low Chloroplastic Carbonic Anhydrase Affiliations Expand. [Online] **1996**, 112(1), pp 319-326. <https://doi.org/10.1104/pp.112.1.319>(дата звернення Жовт 28, 2024).
- <sup>26</sup> Stemler, L. Educational characteristics of multimedia: A literature review. *Journal of Educational Multimedia and Hypermedia*, 6, 1997, pp 339-35.
- <sup>27</sup> Xin Pu, Yejun Han Promotion of Carbon Dioxide Biofixation through Metabolic and Enzyme Engineering [Online] **2022**, 12(4), 399 <https://doi.org/10.3390/catal12040399> (дата звернення Жовт 20, 2024)
- <sup>28</sup> Vats, S.; Kumar, S.; Ahuja P. Review  $\text{CO}_2$  sequestration in plants: lesson from divergent strategies. *Biodiversity and Biotechnology, Divisions, Institute of Himalayan Bioresource Technology, Palampur. India* [Online] **2011**, 49 (4), pp 481-496. <https://doi.org/10.1007/s11099-011-0078-z> (дата звернення Жовт 24, 2024)
- <sup>29</sup> Sage, R.; Sage, T.; Kocacinar F. Photorespiration and the evolution of  $\text{C}_4$  photosynthesis. Annual review of plant biology. Esther Sundermann, *Institute for Computational Cell Biology*. Heinrich Heine. University Düsseldorf [Online] **2012**, 63, pp 19-67. <https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-042811-105511> (дата звернення Жовт 22, 2024)
- <sup>30</sup> Капустян В.В. Інтродукція та збереження рослинного різноманіття *Вісник Київського національного університету ім. Т.Шевченка*. жовт, 2006, с 38-40(дата звернення Жовт 23,2024)

- <sup>31</sup> Serag, M.; Abdelhamid; A.; Reham M. ; Nesma M. Habitat Range of Four Atriplex Species Growing in the Mediterranean Coast of Egypt. *Scientific Journal for Damietta*. Faculty of Science Environmental Science, Agricultural and Food Sciences. Semantic Scholar. [Online] **2024**. <https://doi.org/10.21608/sjdfs.2024.283721.1165> (дата звернення Жовт 24, 2024)
- <sup>32</sup> Grabowska, K.; Pietrzak, W.; Paśko, P.; Sołtys, A. Antihyaluronidase and antioxidants potential of *Atriplex sagittata* in Relation to Phenolic Compounds and Triterpene Saponin <https://pmc.ncbi.nlm.nih.gov/articles/PMC9921161/> (дата звернення Жовт 26, 2024)
- <sup>33</sup> *Atriplex sagittata* Borkh. in GBIF Secretariat (2023). GBIF Backbone Taxonomy. Checklist dataset. <https://doi.org/10.15468/39omei> (accessed Sep 5, 2024)
- <sup>34</sup> Royal Botanic Gardens, Kew. <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:164128-1#distributions> (дата звернення Жовт 28, 2024)
- <sup>35</sup> McArthur, E.; Sanderson, S.; Stutz, R.; Johnson K. Distribution, systematics, and evolution of Chenopodiaceae: an overview. Proceedings of the Symposium on the Biology of *Atriplex* and Related Chenopods. *General Technical Report INT. USDA Forest Service, Inter mountain Forest and Range Experiment station*; Provo: Utah, **1984**; 172.
- <sup>36</sup> Wikipedia. Лутига блискуча. [https://uk.wikipedia.org/wiki/Лутига\\_блискуча](https://uk.wikipedia.org/wiki/Лутига_блискуча) (дата звернення Жовт 29, 2024).
- <sup>37</sup> Osmond, C.; Björkman, O.; Anderson, D. Physiological Processes in Plant Ecology – Towards a Synthesis with *Atriplex*. *Physiological Processes in Plant Ecology*. Springer Verlag: Berlin, **1980**; vol. 36, pp 14 –24.
- <sup>38</sup> Nardini, M.; Grabowska, K.; Pietrzak, W.; Paśko, P.; Sołtys, Agn.; Galanty, Agn; Żmudzki, P.; Nowak, R.; Podolak, Ir. Antihyaluronidase and Antioxidant Potential of *Atriplex sagittata* Borkh. in Relation to Phenolic Compounds and Triterpene Saponins. Copyright and License information. *Molecules*. [Online] **2023** , 28(3):982. <https://doi.org/10.3390/molecules28030982> (дата звернення Лист 6, 2024)
- <sup>39</sup> Randy, W. Light and Video Microscopy (Second Edition). *Bright-Field Microscopy*.

[Online] **2014**, 4, pp 79-96 <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-411484-5.00004-4> (дата звернення Лист 8, 2024)

<sup>40</sup> Li, X.; Zhou, R.; Yang, H.; Liang, Z.; Yao, Y.; Yu, Z.; Du, M.; Lou, D.; Li, K. Properties of Carbonic Anhydrase-Containing Active Coatings for CO<sub>2</sub> Capture. *Processes* [Online] **2024**, 12(4), 810. <https://doi.org/10.3390/pr12040810> (Дата звернення Лист 9, 2024)

<sup>41</sup> Wellburn, A. The Spectral Determination of Chlorophylls a and b, As Well As Total Carotenoids, Using Various Solvents with Spectrophotometers of Different Resolution. *Journal Plant Physiology*. [Online] **1994**, 144, pp 307-313. [http://dx.doi.org/10.1016/S0176-1617\(11\)81192-2](http://dx.doi.org/10.1016/S0176-1617(11)81192-2) (дата звернення Лист 10, 2024)

<sup>42</sup> Makino, A.; Sakashita, H.; Hidema, J.; Mae, T.; Ojima, K.; Osmond, B. Distinctive Responses of Ribulose - 1,5 - Bisphosphate Carboxylase and Carbonic Anhydrase in Wheat Leaves to Nitrogen Nutrition and their Possible Relationships to CO<sub>2</sub> - Transfer Resistance [Online] **1992**, vol. 100, pp 1737-1743. <https://doi.org/10.1104/pp.100.4.1737> (дата звернення Лист 11, 2024)

<sup>43</sup> Левандовський, Л. В.; Бублієнко, Н. О.; Семенова О. І. *Природоохоронні технології та обладнання*; НУХТ: Київ, 2013; с 243.

<sup>44</sup> Bradford, M. A Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, [Online] **1976**, vol. 72(1-2), pp 248-254. <https://doi.org/10.1006/abio.1976.9999> (дата звернення Лист 17, 2024)

<sup>45</sup> Capasso, C.; De Luca, V.; Carginale, V.; Cannio, R.; Rossi, M. Biochemical properties of a novel and highly thermostable bacterial  $\alpha$  carbonic anhydrase from *Sulfurihydrogenibium yellowstonense*. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry* [Online] **2012**, vol. 27, pp. 892-897.

<https://doi.org/10.3109/14756366.2012.703185> (дата звернення Лист 18, 2024)

<sup>46</sup> Favre, N.; Lorraine Christ, M.; Pierre, A. Biocatalytic capture of CO<sub>2</sub> with carbonic anhydrase and its transformation to solid carbonate. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic* [Online] **2009**, 60, pp. 163–170. <http://doi.org/10.1016/j.molcatb.2009.04.018> (дата звернення Лист 22, 2024)

<sup>47</sup> Cold Spring Harbor Protocols.

<https://cshprotocols.cshlp.org/content/2006/1/pdb.rec10475.full#:~:text=Dissolve%2030.0%20g%20of%20Tris%20base%2C%20144.0%20g,room%20temperature%20and%20dilute%20to%201X%20before%20using%20buffer> (дата звернення Лист 25,2024)

<sup>48</sup> Chafik, A.; El Hassania, K.; Essamadib, A.; Yildirim Ç.; Mavi A. Efficient sequestration of carbon dioxide into calcium carbonate using a novel carbonic anhydrase purified from liver of camel (*Camelus dromedarius*). *Journal of CO<sub>2</sub> utilization* [Online] **2020**, 101310,42. <http://doi.org/10.1016/j.jcou.2020.101310> (дата звернення Лист26,2024) ;

<sup>49</sup> Перегуда, О. В.; Капустян, О.А.; Курилко, О.Б. *Статистична обробка даних. Навчальний посібник*. КНУ імені Тараса Шевченка : Київ, 2022; с 13 – 55.

<sup>50</sup> Клебріг. Карбонат кальцію - застосування.

<https://klebrig.com.ua/ua/a476829-karbonat-kaltsiyu-zastosuvannya.html?srsltid=AfmBOopb5k47fkgmDVBwajloZgcQBElaQQw8jJEAE-ixMgI6TQRGLhNZ> (дата звернення Лист 30,2024).

ДОДАТКИ

Додаток А



Міністерство освіти і науки України  
Житомирський державний університет імені Івана Франка

# Сертифікат

Цей документ засвідчує, що

**Горбенко Ірина**

взяла участь

у XV Всеукраїнській науково-практичній конференції  
«Біологічні дослідження – 2024»

**08-09 жовтня 2024 року**



Ректор університету, професор

Галина КИРИЧУК

вул. Велика Бердичівська, 40 м. Житомир, Україна, 10008  
тел./факс: +380 412 43-14-17 e-mail: zu@zu.edu.ua