

ДЕПАРТАМЕНТ ОБРАЗОВАНИЯ ГОРОДА МОСКВЫ
ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ ПРОФЕССИОНАЛЬНОЕ
ОБРАЗОВАТЕЛЬНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ «ВОРОБЬЕВЫ ГОРЫ»
ЦЕНТР «НА ДОНСКОЙ»

Разработка нового типа микробных топливных элементов и изучение их работы

Выполнил работу:

Усанов Сергей Александрович
Ученик 11 класса
ГБПОУ «Воробьевы горы»
кружок «Основы исследовательской
работы по биологии и экологии»

Руководитель:

Киричок Елена Ивановна,
педагог дополнительного образования
Центра «На Донской»
ГБПОУ «Воробьевы горы»

Научный консультант:

Волченко Никита Николаевич,
кандидат биологических наук,
доцент
Кубанского государственного университета

Москва 2019/20

Оглавление

Введение	3
Литературный обзор.	4
Методика работы.....	5
Результаты	6
Выводы.	11
Заключение.....	12
Список литературы	13
Приложения	14

Введение

В современном мире постоянно идет поиск новых источников энергии, причем идет упор на разработку экологически чистых, так называемых альтернативных источников (Лев, 2016; Шеуджен и др., 2017; Дубовец, 2018). В то же время для небольших устройств обычно требуются источники электроэнергии, которые дают небольшое напряжение, т.е. низковольтные источники. Одним из таких источников могут служить микробные топливные элементы (МТЭ), которые в отдельных случаях могут составить конкуренцию более широко используемым источникам. МТЭ можно назвать биогальваническими элементами, поскольку этот элемент работает на основе деятельности электрогенных (анодофильных) бактерий (Шауджен и др., 2017). МТЭ работает на основе преобразования энергии химических связей органических веществ в электричество посредством анаэробного окисления органических субстратов. Микробные топливные элементы могут использовать сточные воды городов, предприятий, что делает их весьма эффективными средствами не только для производства электрической энергии, но и защиты окружающей среды от загрязняющих веществ, содержащихся в данных субстратах (Холодова, 2013; Жигула, 2012). МТЭ сегодня – это громоздкая конструкция, но таким свойством не должна обладать установка, дающая сравнительно малое напряжение. Как оказалось, МТЭ очень удобно использовать в полевых условиях, но для этого пришлось провести ряд исследований и собрать новаторскую конструкцию, обладающую небольшими размерами.

Цель моей работы: разработать новую конструкцию микробных топливных элементов (МТЭ) для применения в полевых условиях и исследовать способы увеличения их эффективности.

Задачи: 1) разработать и собрать новаторскую конструкцию МТЭ для применения в полевых условиях;

2) провести замер электрического тока и напряжения, получаемого от работающих установок в полевых условиях, а также выявить закономерности их работы;

3) изучить физико-химические показатели и биологическую активность образцов анодофильных бактерий;

4) проанализировать полученные данные и на их основе сделать выводы об условиях, требующихся для наиболее эффективной работы МТЭ.

Литературный обзор.

Описание микробного топливного элемента

МТЭ можно назвать биогальваническими элементами (Шеуджен и др., 2017). Принцип их работы состоит в том, что в одной из двух камер, разделенных проницающей мембраной, в анаэробных условиях находятся электрогенные бактерии, которые окисляют органический субстрат. В процессе окисления по дыхательной цепи бактерий выходят электроны и переносятся на анод. Катод представлен аэробной частью, контактирующей, контактирующей и преобразующее энергию химических связей органических веществ в электричество посредством анаэробного окисления органических субстратов. Микроорганизмы, производящие электричество, находятся в анодной камере, в которой поддерживаются анаэробные условия. Катод находится в аэробных условиях. Суть работы МТЭ заключается в «отрыве» микроорганизмами электронов от субстрата и передаче их на анод. Электроны, под действием разности окислительно-восстановительных потенциалов, начинают двигаться к катоду, на котором происходит восстановление кислорода с образованием воды. Одновременно с отрывом электронов от субстрата происходит образование протонов водорода, которые проходят через ионноселективную мембрану из анодной камеры в катодную, где и соединяются с кислородом с образованием воды (Кусачева и др., 2016; Лев, 2016; Дубовец, 2018). В работающих МТЭ бактериальные сообщества чаще всего представлены в виде биопленки.

Транспорт электронов бактериями

В течение последних лет объектом интенсивного изучения ученых стал процесс прямого переноса электронов от анаэробно выращенных микроорганизмов к электроду топливного элемента. Микроорганизмы, ответственные за такой транспорт электронов, были названы электрогенными или анодофильными. В роли таковых бактерий чаще всего выступают наиболее изученные *Shewanella oneidensis* и *Geobacter sulfurreducens*. Сенсационным стало открытие проводящей нанопроволоки, создаваемой бактериями и используемой ими для переноса электронов на электрод, ведь с 1960-х годов до недавнего времени считалось необходимым присутствие экзогенного электронного транспортера (соединения, принимающего электроны в пределах клетки или на её поверхности и отдающего их на электроде) (Katz et al., 2003; Kim et al., 2004).

Пример

Конструкция МТЭ с уксусной кислотой как окисляемое органическое соединение схематически представлена в Приложении 1. Бактерии и органические соединения ограничены анодной камерой, где сохраняются анаэробные условия. Катод поддерживается в аэробных условиях (с помощью аэрации). Анодная и катодная камеры разделены ионноселективной мембраной, обеспечивающей передачу протонов и предотвращающей попадание кислорода в анодную камеру. Из схемы (Приложения 1, 2)

становится понятным, что единственным путём, через который электрон может достигнуть акцептора является анод, а затем и электрическая цепь.

Методика работы

Работа проводилась летом 2018 года в Образовательном центре «Сириус» с группой школьников под руководством специалистов, затем продолжена лично летом и осенью в Москве.

Первостепенно был произведён поиск материалов, подходящих для использования в водных условиях, т.е. материалов не поддающихся процессу коррозии. После анализа рынка товаров мною были выбраны следующие материалы: стеклопластиковая арматура, углеродные войлок и жгут, также в процессе работы были использованы провода и термоклеи.

Стеклопластиковая арматура относится к композитным материалам, состоит из стекольных жгутов придающих жёсткость конструкции, заключённых в оболочку из более упругого пластика. Она не содержит в своём составе металлов и благодаря этому не ржавеет. Мною была выбрана и использована арматура компании «Армпласт». Её я использовал в роли каркаса для МТЭ.

Углеродный войлок или карбопон представляет из себя чистый углерод на 90-99%, благодаря этому он обладает хорошей электропроводимостью и не ржавеет. Он обладает пористой структурой и гигантской внутренней площадью, именно поэтому на него может прикрепиться большое количество анодофильных бактерий. Мною был использован карбопон компании «М-Карбо». Углеродный жгут обладает схожими свойствами, но он не обладает пористой структурой и, благодаря этому его легче использовать для изоляции проводов.

Углеродный войлок был разделён на куски $0,055_{\text{м}} \times 0,05_{\text{м}}$ для анода и $0,0275_{\text{м}} \times 0,05_{\text{м}}$ для катода (куски имели толщину в $7,5 \times 10^{-3}_{\text{м}}$).

Арматура была распилена на отрезки по $0,2_{\text{м}}$, после к некоторым из них крепились участки карбопона (в нижней части – анод, в верхней – катод) и провода, а затем изолировались термоклеем (Приложения 3, 4).

Часть получившихся штырей была собрана в единую конструкцию, а часть осталась не сцепленной и использовалась в дальнейшем для проведения экспериментов (Приложение 3).

Также были собраны конструкции иного вида, имитирующие использование наших установок, отличающихся по некоторым параметрам, в полевых условиях (Приложение 5). Они представляли собой ведра диаметром $0,2_{\text{м}}$ и высотой $0,15_{\text{м}}$. «ведра» были наполнены следующим образом (снизу вверх): слой ила, анод из карбопона, небольшой слой ила, слой воды и катод из карбопона в нём.

Для определения способов увеличения эффективности МТЭ были проведены мультиреспираторный тест (МРТ) для изучения дыхательной активности, тест FDA для изучения ферментативной активности, посев

бактерий на чашку Петри, изучение физико-химических показателей воды, а также показателей электрического тока, создаваемого МТЭ в разных условиях. Напряжение, выдаваемого установками, измерялось вольтметром.

Результаты

В процессе работы были разработаны и собраны две конструкции МТЭ. Первый тип конструкции (Приложение 4) состоял из штырей, которые также использовались для опытов. МТЭ такого типа очень прост, его легко установить в водоём в полевых условиях (простым нажатием), однако имеет маленькую площадь электродов, а, следовательно, с его помощью можно получить очень небольшое напряжение. Применение МТЭ второго типа было симитировано в ведрах (Приложение 5). Такие МТЭ имеют много большую площадь электродов, но более сложны в установке (требуется плотно покрыть анод слоем ила). Обе установки имеют коренное отличие от обычных МТЭ: они могут применяться в полевых условиях, в любых водоёмах, их легко транспортировать.

Работа установки в полевых условиях

Собранные конструкции из 3-х штырей были опущены на глубину 6 м и погружены в морской песок

Измерение напряжения, выдаваемого установками, проводилось вольтметром в полевых условиях дважды, были получены данные, продемонстрированные в Приложениях 6 и 7. Мы видим, как в первые полтора-два дня происходит расселение бактерий на аноде,

Собранные установки дважды опускались на дно, где работали по 6 дней. Исходя из полученных данных по напряжению на них, можно сказать, что в первые 1-2 дня бактерии расселяются по всей площади анода, в это время наблюдается равномерное увеличение получаемого напряжения и наиболее стабильный уровень напряжения устанавливается лишь к концу второго дня. Затем наблюдаются изменения напряжения, соответствующие изменениям температуры в водоёме и другим показателям среды, а резкие падения напряжения можно объяснить отхождением контактов.

Измерение физико-химических показателей в пробах

Штыри были помещены в колбы с пробами ила и песка из реки Мзымты, Имеритинского озера, Чёрного моря и канала для сточных вод, богатых органическими отходами, около ОЦ Сириус (Приложение 8).

По прохождении некоторого промежутка времени были проведены замеры физико-химических показателей (окислительно восстановительный потенциал (ОВП), рН среды, содержание кислорода в воде) в образцах при разной глубине погружения измерительных приборов (Приложение 9).

Для исследования было взято по пять проб ила и морского песка. Т.к. пробы были отобраны на некотором расстоянии друг от друга, они имели небольшие различия, которые можно объяснить неравномерным распределением органического вещества по дну, поэтому для получения наиболее точных результатов было высчитано среднее значение (Приложения 10-15).

Большее значение ОВП по модулю способствует более эффективной работе МТЭ, это предположение подтверждается полученными позже данными о напряжении на установках в пробах из разных источников, результатами МРТ и FDA-теста. Также полученные значения соотносятся с логичным выводом о том, что более эффективно будут работать установки, опущенные в илистое дно, а не в морской песок. Это объясняется большим содержанием органики в них: большее её содержание положительно воздействуют на жизнедеятельность бактерий, увеличивая их активность, а, следовательно, и напряжение на установках. Большее количество органики содержалось в канале и Имеретинском озере, а в море оно было незначительно, схожая с морем ситуация наблюдается в реке Мзымта, т.к. проба из неё бралась из устья реки, в месте, где она впадает в море, т.е. в ней присутствовало большое количество песка.

Известным фактом является, что рН и гН (ОВП) тесно связаны друг с другом. Окислительные процессы понижают показатель кислотно-щелочного равновесия (чем выше гН, тем ниже рН), восстановительные - способствуют повышению рН. В свою очередь показатель рН влияет на величину гН.

В случае с морским песком активность бактерий и ОВП малы, при этом рН изменяется незначительно: в каждой из точек он уменьшается, но не более, чем на 0,15 единиц. А в ситуации с МТЭ в пробах с илом, где установки работали активнее, ситуация интереснее: из-за работы МТЭ в верхних слоях воды увеличивается содержание водорода, а в иле его содержание уменьшается, следовательно значение рН “расслаивается” относительно значения в контрольной пробе без МТЭ. Максимальное увеличение – на 0,15 единиц, а уменьшение – на 0,2 единицы. Хотя значение рН в окружающей среде изменяется, в настоящем водоёме из-за перемешивания водных масс изменение данного параметра практически не будет происходить.

Изучение биологической активности образцов

Оценка количества микроорганизмов в образцах воды методом посева и подсчёта колоний на чашках Петри

Мной был произведён посев микроорганизмов, взятых из придонной толщи воды. Посев производился на плотную питательную среду LB-агар, включающий в себя пептиды и пептоны казеина, витамины, в том числе витамины группы В, микроэлементы (азот, сера, магний).

Были произведены газонный посев и посев с модификацией посева по Дригальски.

Газонный посев проводился шпателем, который окунали в придонный слой воды, а в случае с модификацией Дригальски вместо шпателя использовалась петля для посева.

Затем вручную было подсчитано количество колоний бактерий (Приложение 16).

Изучение ферментативной активности микробных сообществ с помощью реакции с диацетатом флуоресцеина (FDA-тест)

В процессе жизнедеятельности бактерий они образуют ферменты. Эти ферменты могут вступать в реакцию с FDA с последующим его разложением. Это приводит к тому, что нефлуоресцентный FDA превращается в зелёное флуоресцентное соединение флуоресцеин. Чтобы результат эксперимента сохранился, пробирки стоит хранить при 4°С без доступа света. Затем из-за изменения оптических свойств воды мы можем прибегнуть к методу измерения оптической плотности, которая зависит от ферментативной активности образцов. При проведении FDA-теста с пробами ила из различных источников были получены следующие данные (Приложения 17 и 18).

Оценка дыхательной активности микробных сообществ

Образцы ила и песка были расфасованы по ёмкостям в плашке, затем в каждую ёмкость были добавлены различные органические соединения. Способные использоваться в качестве затравки для быстрого роста при использовании МТЭ.

Мы использовали 1% растворы 7 легкоразлагаемых веществ в качестве углеродных субстратов: Глюкоза, Ацетат Натрия, Лимонная кислота, Глицерол, Сахароза, Янтарная кислота, Малоновая кислота; а также воду. В роли индикатора выступал cresol red, нанесённый на крышку, который были закрыты образцы.

По прохождении нескольких часов в ходе жизнедеятельности бактерий выделилось достаточное количество CO₂, чтобы провзаимодействовать с cresol red и изменить его окраску над бактериями. Т.к. крышка лежала плотно, выделившийся CO₂ не мог в сильной мере повлиять на результат соседних ячеек. Ячейкам, над которыми цвет индикатора поменялся с пурпурного на жёлтый, мы присваивали значение “1”, а тем, над которыми не поменялся – “0”. Также из-за видимых отличий для двух ячеек были присвоены значения “2”. Исходя из этого были составлены таблицы (Приложения 19 и 20). Также процесс получения данных представлен во вложениях 21 и 22.

Оказалось, что наилучшим образом проявили себя Янтарная и Малоновая кислоты: в пробах с их добавлением CO₂ выделялся наиболее

активно, а, следовательно, бактериальное сообщество в них росло наиболее интенсивно.

Из проведённого эксперимента можно сделать следующий вывод: для скорейшего расселения анодофильных бактерий по всей площади анода и увеличения эффективности установок анод следует пропитывать янтарной или малоновой кислотами.

МРТ показал, что пропитка анода легкоразлагаемыми органическими веществами увеличивает активность микробных сообществ. Наиболее эффективными пропитками оказались янтарная и малоновая кислоты, при чём янтарная оказывает эффект раньше, нежели чем малоновая.

Если сравнить данные посева и FDA-теста, то можно сказать, что, ферментативная активность у бактерий в море в разы ниже, чем у бактерий из других источников, а наибольшее соотношение ферментативной активности к их численности наблюдается у бактерий, взятых из реки Мзымты, также добавление нефти в небольших количествах может повышать или понижать ферментативную активность бактерий, т.е. ее влияние неопределенное.

Полный факторный эксперимент

После проведения МРТ я проанализировал воздействие пропитки на работу МТЭ (Приложение 23).

В приложении представлены данные по напряжению, получаемому от МТЭ с пропиткой. Сильно видны различия с данными, полученными от МТЭ без пропитки (Приложения 6 и 7). В случае с пропиткой наблюдается более резкое возрастание напряжения в первые дни, т.е. скорейший приход к относительно стабильному уровню получаемого напряжения (такому же, что и в случае без пропитки). Т.е., если требуется скорейшее приведение МТЭ в работающее состояние, то стоит использовать пропитку, как показало МРТ, стоит использовать малоновую кислоту.

Помимо МРТ был проведён ещё один эксперимент, помогающий определить оптимальные для работы МТЭ условия. Я проанализировал изменения показателей электрического тока в зависимости от площади электродов. Мною были сконструированы штыри нескольких видов: первый тип имел полноценные катоды из тонкого слоя углеродного волокна и толстого слоя углеродного войлока (обозначено за “+”), а второй же тип был изготовлен без карбопона, с применением одного лишь углеродного волокна (обозначено за “-”). В роли пропитки выступала Малоновая кислота (наличие – “+”, отсутствие – “-”). Также помимо простых проб исследовались пробы, в которые была добавлена нефть, как пример загрязнителя водоёма в полевых условиях (Приложение 26).

Результаты были обработаны по алгоритму Йетса с проверкой значимости коэффициентов по полувероятностному графику с помощью

Excel. Промежуточные данные и формула представлены в приложениях 24 и 25.

Анализ результатов показал, что основной фактор, влияющий на величину тока на выходе – площадь электрода.

Полный факторный эксперимент показал, что основной фактор – площадь электрода, напряжение, создаваемое в МТЭ с иловым осадком пресноводного канала в 3 раза выше такового в морском грунте.

Выводы.

1. В процессе работы были собраны образцы микробных топливных элементов, которые были запущены в работу.

2. Были выявлены определенные закономерности работы МТЭ:

а) в первые 1-2 дня напряжения увеличивается, к концу второго дня стабилизируется, затем изменения напряжения наблюдаются только в соответствии с изменением окружающих условий, которые влияют на активность бактерий;

б) более эффективно работает МТЭ, опущенный в илистое дно, а не в морской песок и не в смесь песка и ила, т.к. в иле содержится много органики, что положительно воздействует на жизнедеятельность бактерий, увеличивая их активность и, соответственно, напряжение на установках.

3. Анодофильные бактерии значительно повышают по модулю значение окислительно-восстановительного потенциала (ОВП), что повышает эффективность работы МТЭ, а также способствуют изменению рН среды, снижая эту эффективность. Перемешивание воды в естественных водоемах будет выравнивать рН с окружающей средой, поэтому данный фактор можно не принимать во внимание, т.к. в результате он не будет значительно влиять на изменение ОВП.

4. Мультиреспираторный тест показал, что янтарная и малоновая кислоты способствуют активной жизнедеятельности анодофильных бактерий, причем янтарная проявляет это свойство лучше малоновой.

5. Ферментативная активность анодофильных бактерий в море значительно ниже, чем активность бактерий из пресных источников, а наибольшее соотношение ферментативной активности к их численности наблюдается у бактерий, взятых из реки Мзымты.

6. Наилучшие условия для эффективной работы МТЭ – пресные водоемы с большим запасом ила, богатого органикой и высоким по модулю ОВП; электроды должны иметь относительно большую площадь, анод следует пропитывать янтарной кислотой и/или малоновой кислотой.

Заключение.

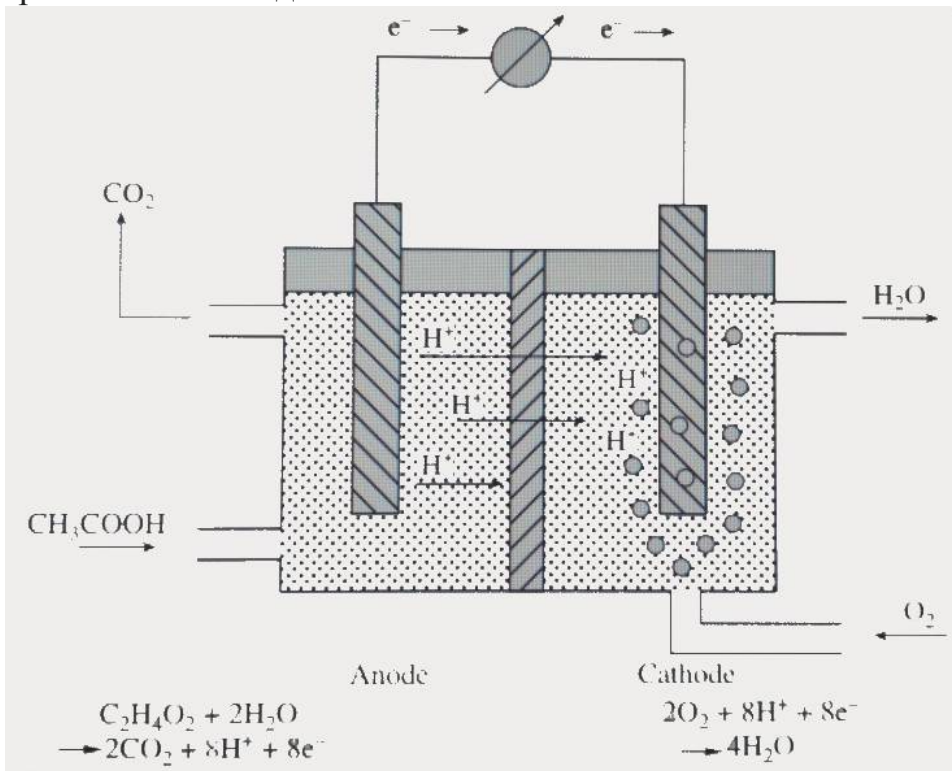
Микробные топливные элементы можно сделать компактными и использовать как источник энергии в отдалённых населенных пунктах для станций мониторинга окружающей среды и для других целей, где не требуется высокое энергопотребление. Для наибольшей эффективности установок стоит производить пропитку анода янтарной кислотой, а в ее отсутствие – малоновой. Больше напряжение можно получить от МТЭ, работающих в пресных водоёмах с илом, богатом органикой, и высоким по модулю ОВП (окислительно-восстановительного потенциала). МТЭ – экологически чистый источник энергии. Возможно, МТЭ – будущие источники энергии для отдельных случаев, и повышение эффективности их работы – важная задача для исследователей и разработчиков.

Список литературы

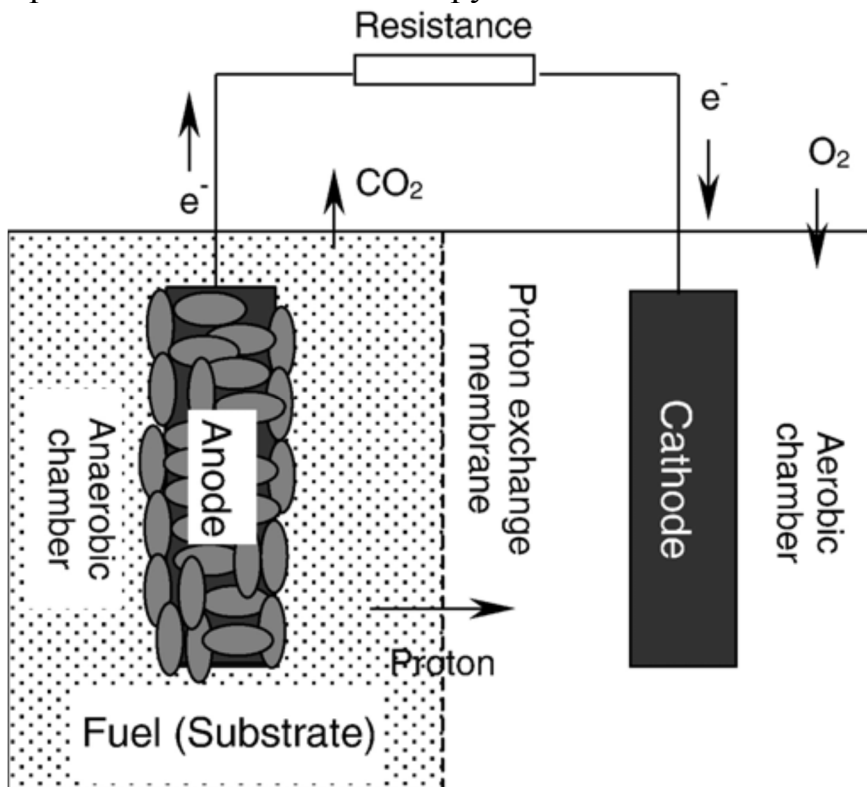
1. Дубовец Д. Л. Микробный топливный элемент как источник альтернативной энергетики // Проблемы науки, 2018. № 7 (31). С. 26-28.
2. Кусачева С.А., Черняев С.И., Сашенко И.И., Гришакова В.В., Жукова Ю.М., Морозенко Д.Н. Обоснование выбора конструкций и материалов системы биогенерации электроэнергии // Современные наукоемкие технологии. 2016. № 6 (часть 1). С. 51-54
3. Лев М. Биоэлектричество: бактерии как альтернативный источник энергии // Воздушно-космическая сфера. 2016. № 2 (87), С. 44-49.
4. Холодова Е.М.. Полупромышленное испытание микробных топливных элементов при очистке концентрированных промышленных сточных вод с последующей генерацией электрической энергии // Известия Московского государственного технического университета МАМИ. 2013. Т. 2, № 3 (17). С. 119-121.
5. Шеуджен Т. М. , Волченко Н. Н. , Самков А. А. Исследование возможности функционирования твердофазных микробных топливных элементов новой конструкции // Проблемы науки. 2017. №2 (15). С. 25-27.
6. Katz, E, Shipway, A.N, and Wilner, I, Biochemical Fuel Cells, Handbook of Fuel Cells–Fundamentals, Technology and Application, Vielstich, W. Lamm, A., and Gasteiger, H.A., Eds., Wiley, 2003, pp. 355–381.
7. Kim, B.H., Park, H.S., Kim, H.J., Chang, I.S., Leen, J., and Phung, N.T., Enrichment of Microbial Community Generating Electricity Using Fuel-Cell-Type Electrochemical Cell, Appl. Microbiol. Biotechnol., 2004, vol. 63, pp. 672–681.

Приложения

Приложение 1. Конструкция МТЭ с уксусной кислотой как окисляемое органическое соединение.



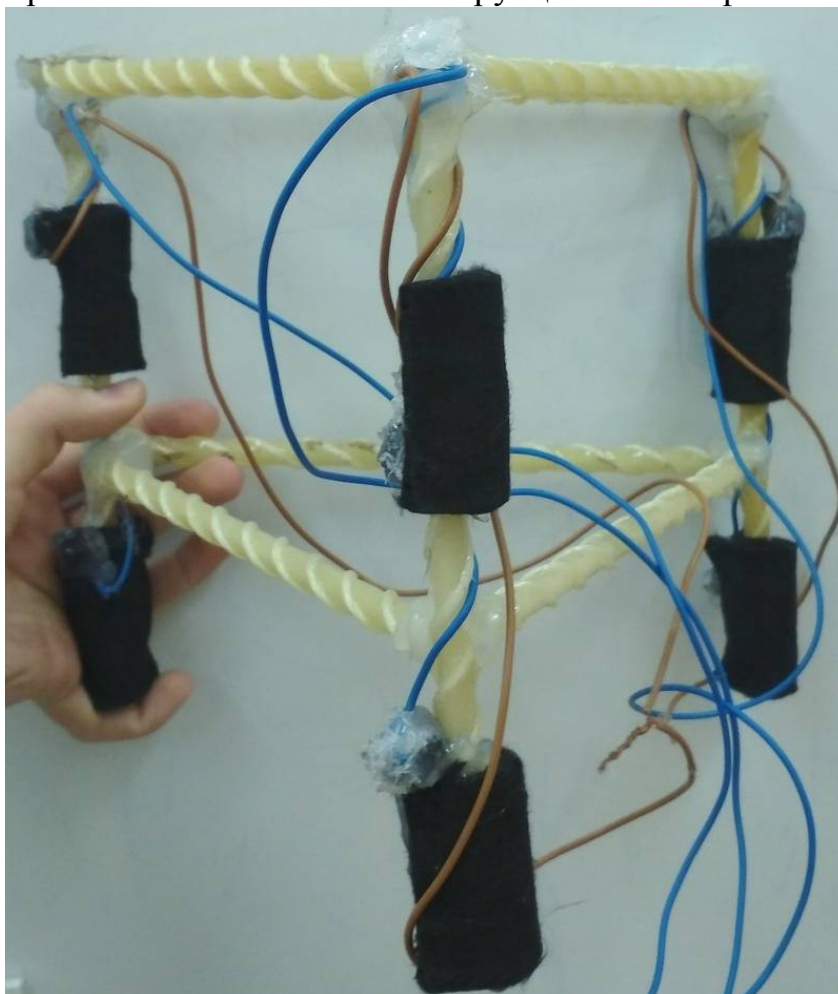
Приложение 2. Схема конструкции МТЭ.



Приложение 3. Штыри, использующиеся для экспериментов.



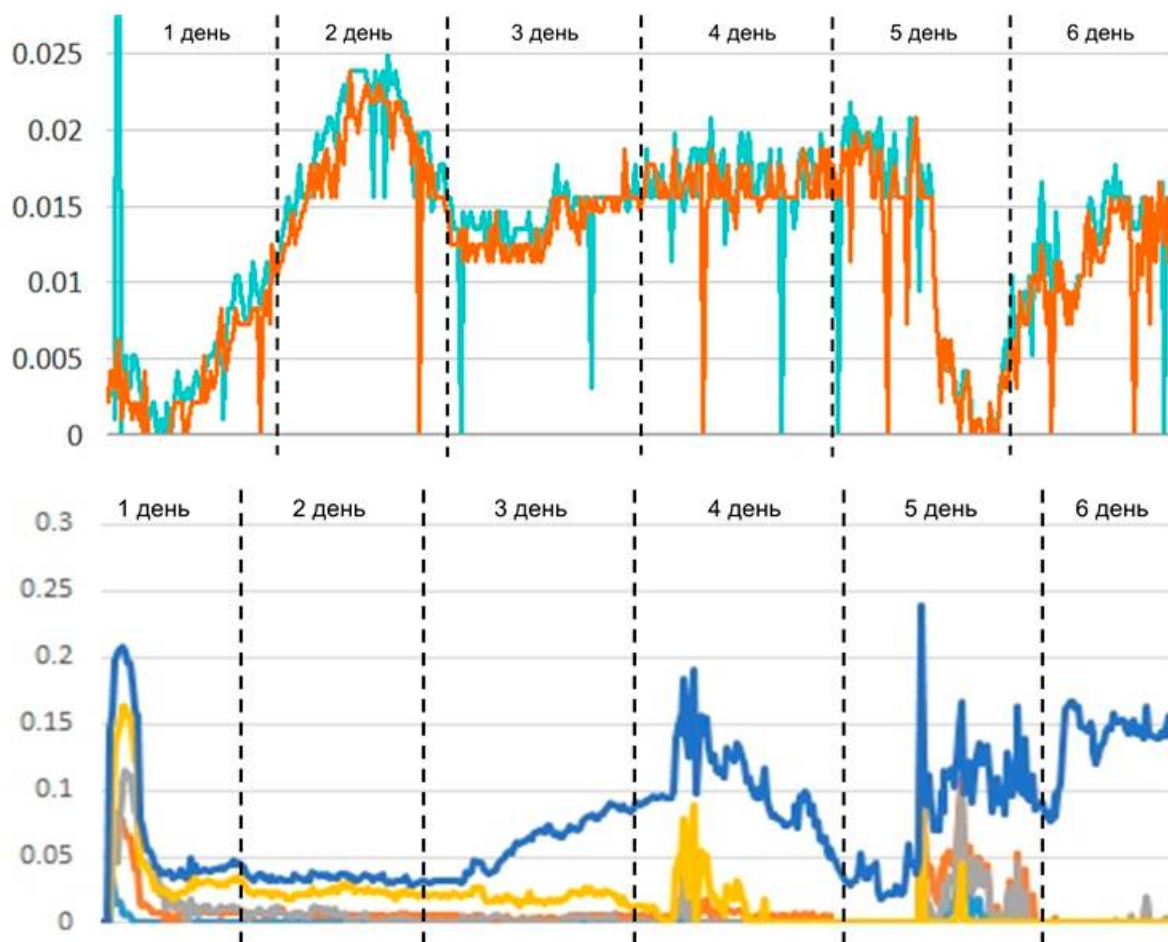
Приложение 4. Готовая конструкция МТЭ первого типа



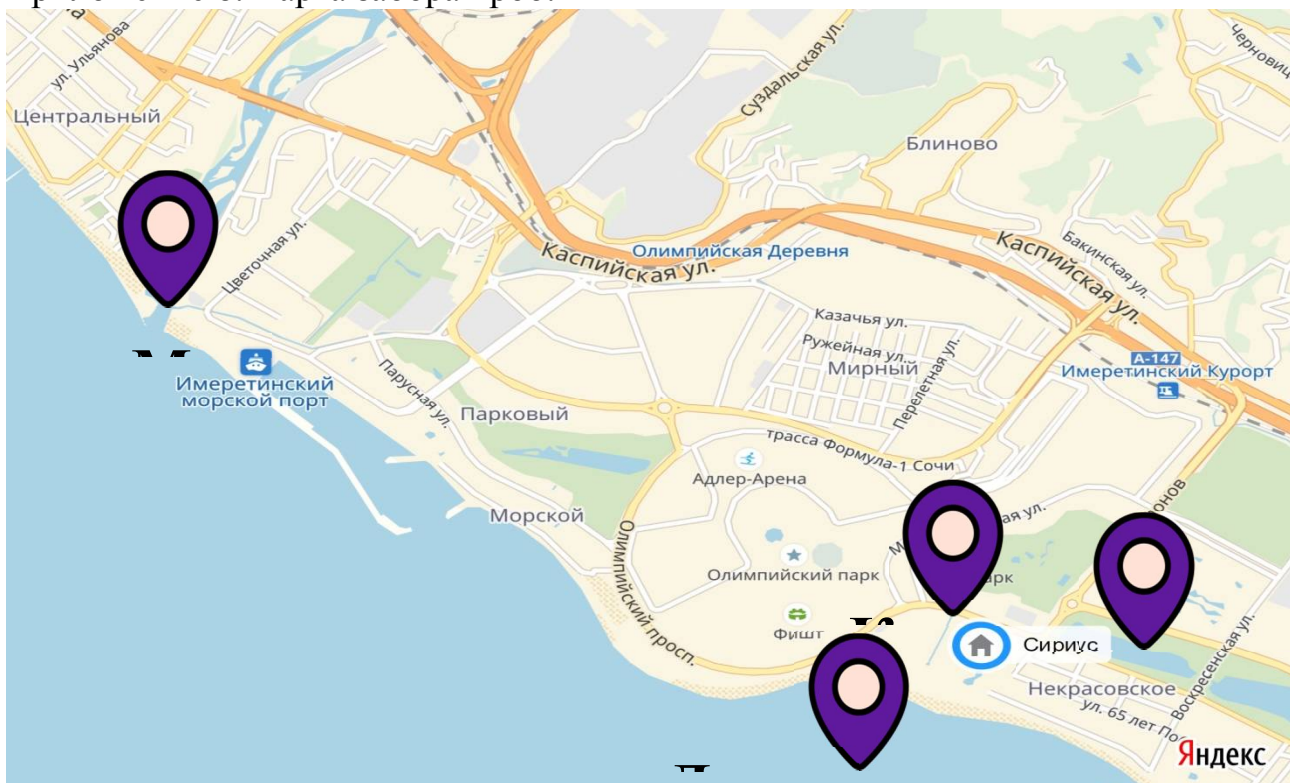
Приложение 5. Конструкция МТЭ второго типа.



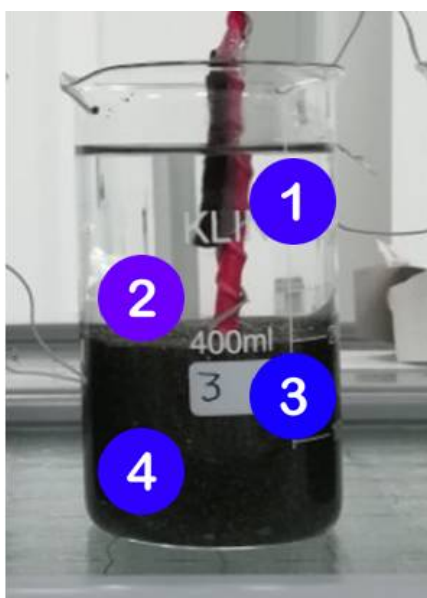
Приложения 6 и 7. Данные по напряжению, выдаваемому установками в море. По ОУ напряжение в В. По ОХ временные промежутки.



Приложение 8. Карта забора проб.

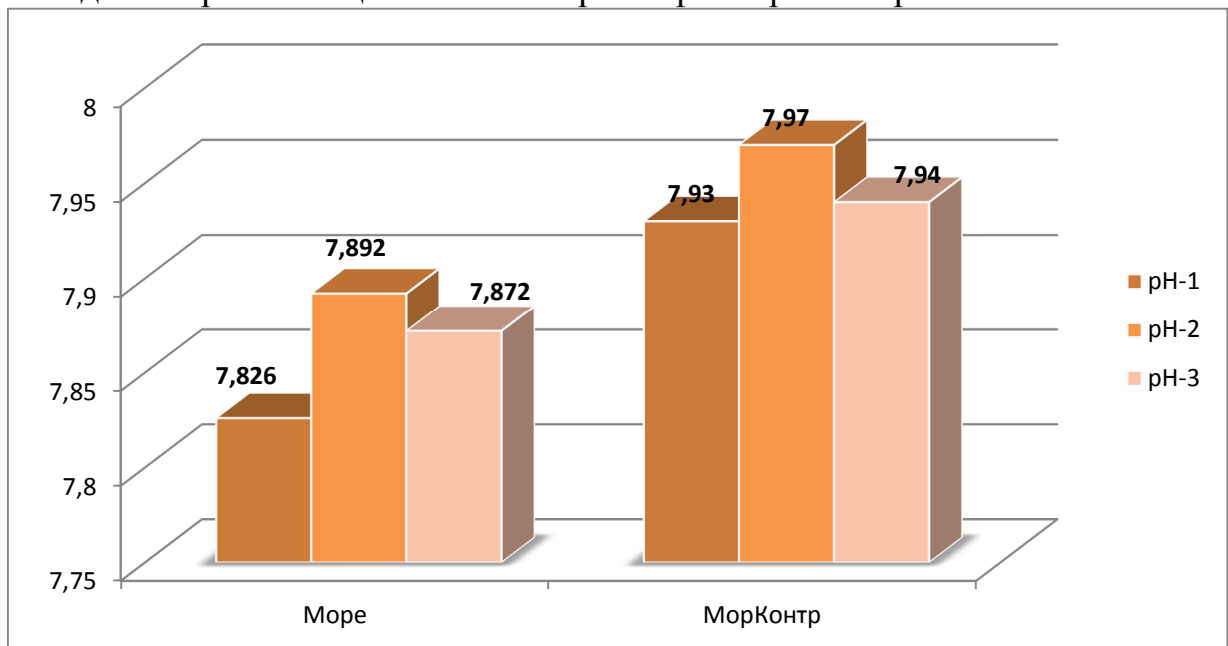


Приложение 9. Цифрами обозначены точки нахождения датчика при замеры показателей.

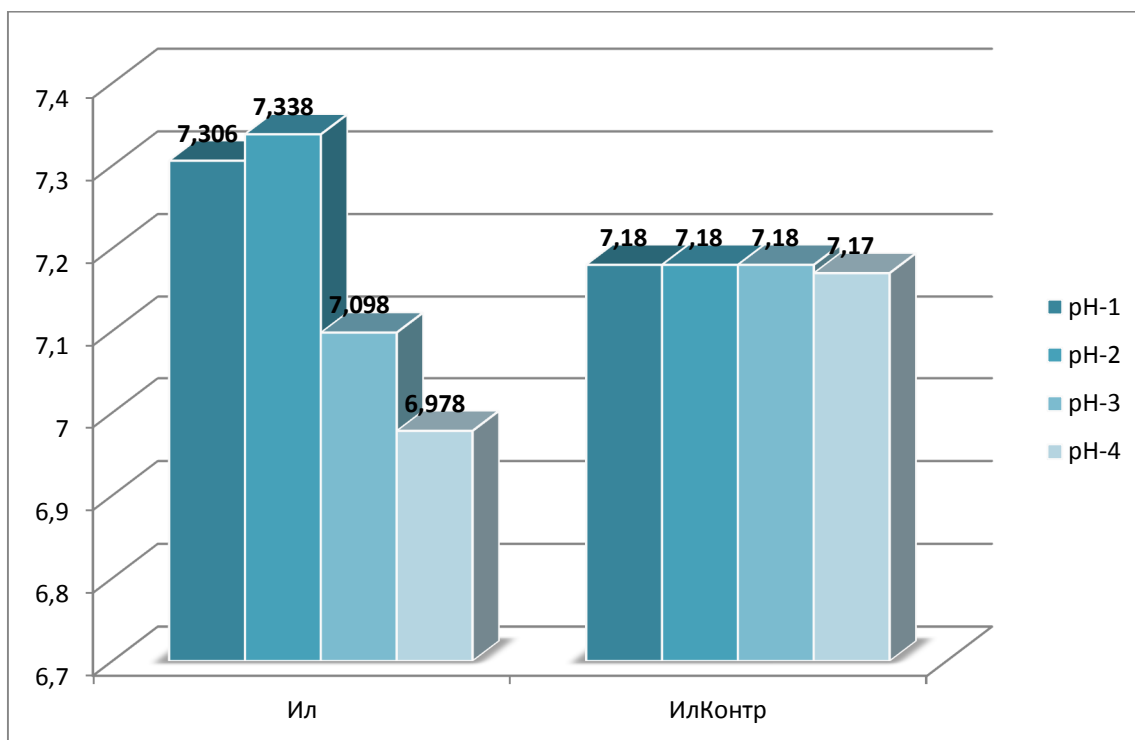


Приложение 10. Значения рН в песке в морской воде.

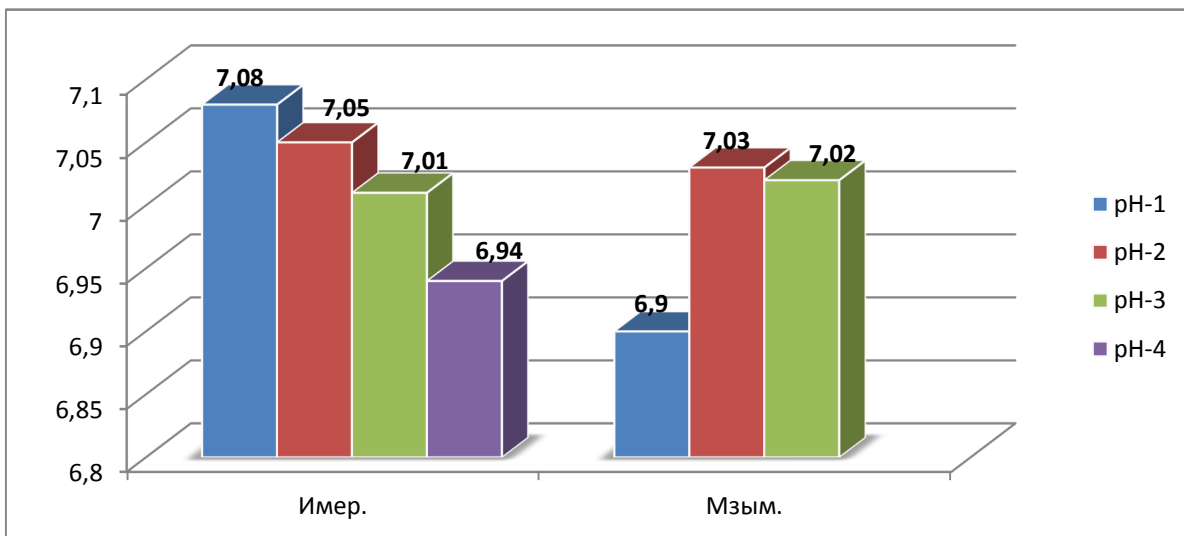
“Ил” – усреднённые значения проб ила, взятых из канала, в которых находились работающие МТЭ. “ИлКонтр” – проба ила без МТЭ; “Море” – усреднённые значения проб песка, взятых из Чёрного моря, в которых находились работающие МТЭ. “МорКонтр” – проба морского песка без МТЭ



Приложение 11. Значения рН в иле в пресной воде из канала.

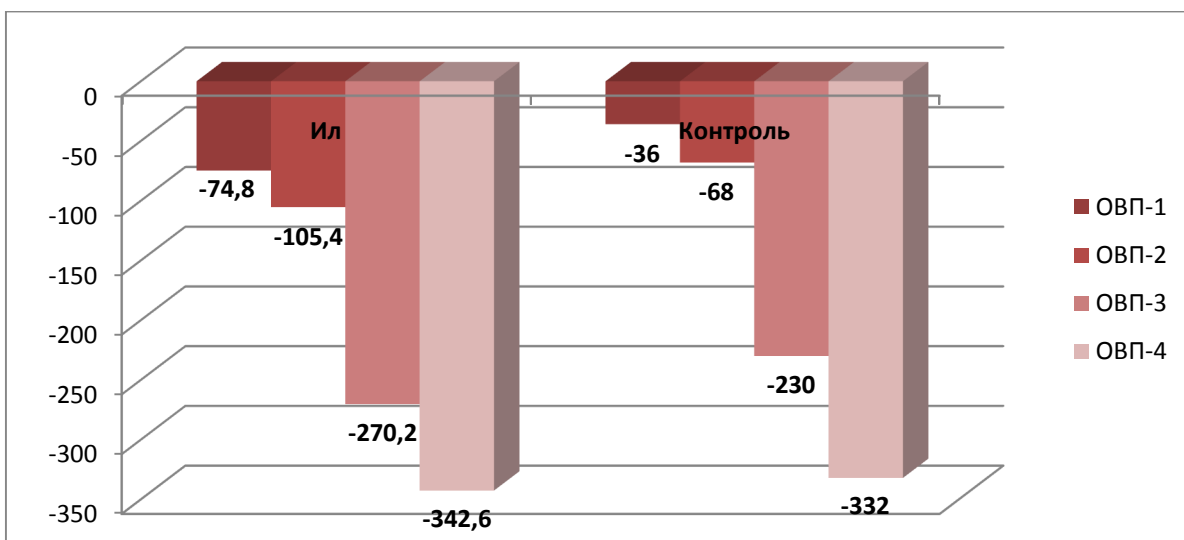


Приложение 12. Значения рН в иле с песком в пресной воде из Имертинского озера и в иле реки Мзымты.

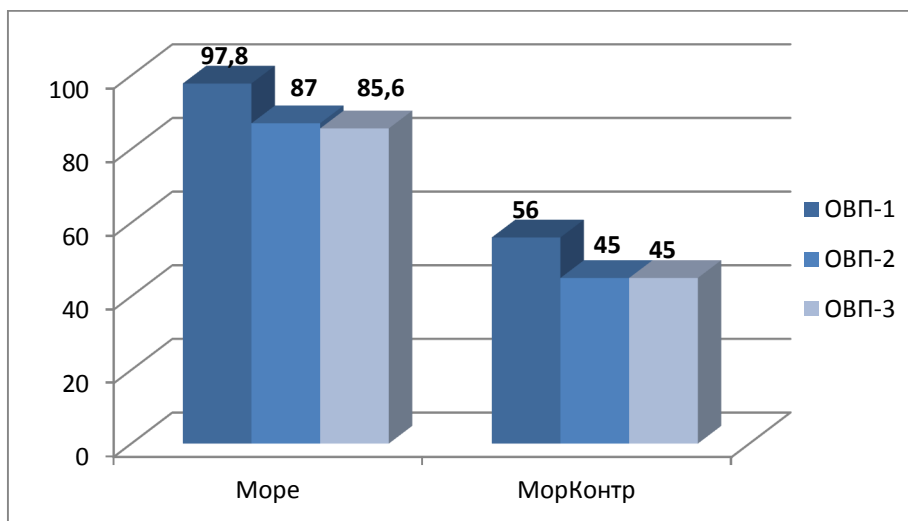


“Имер” – пробы ила, взятые из Имеретинского озера; “Мзым” – пробы ила с песком (забор происходил в устье реки), взятые из реки Мзымты. В пробах с морским песком не проводились измерения в точке “4”, т.к. при погружении датчиков в песок они могли повредиться.

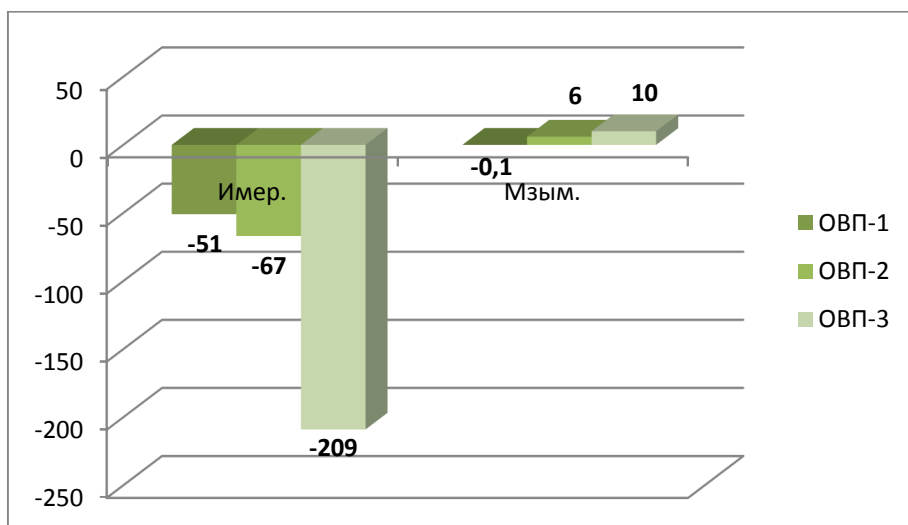
Приложение 13. Результаты измерения окислительно-восстановительного потенциала для ила в воде из канала.



Приложение 14. Результаты измерения окислительно-восстановительного потенциала для песка в морской воде.



Приложение 15. Результаты измерения окислительно-восстановительного потенциала для ила с песком в пресной воде из Имертинского озера и для ила реки Мзымты.



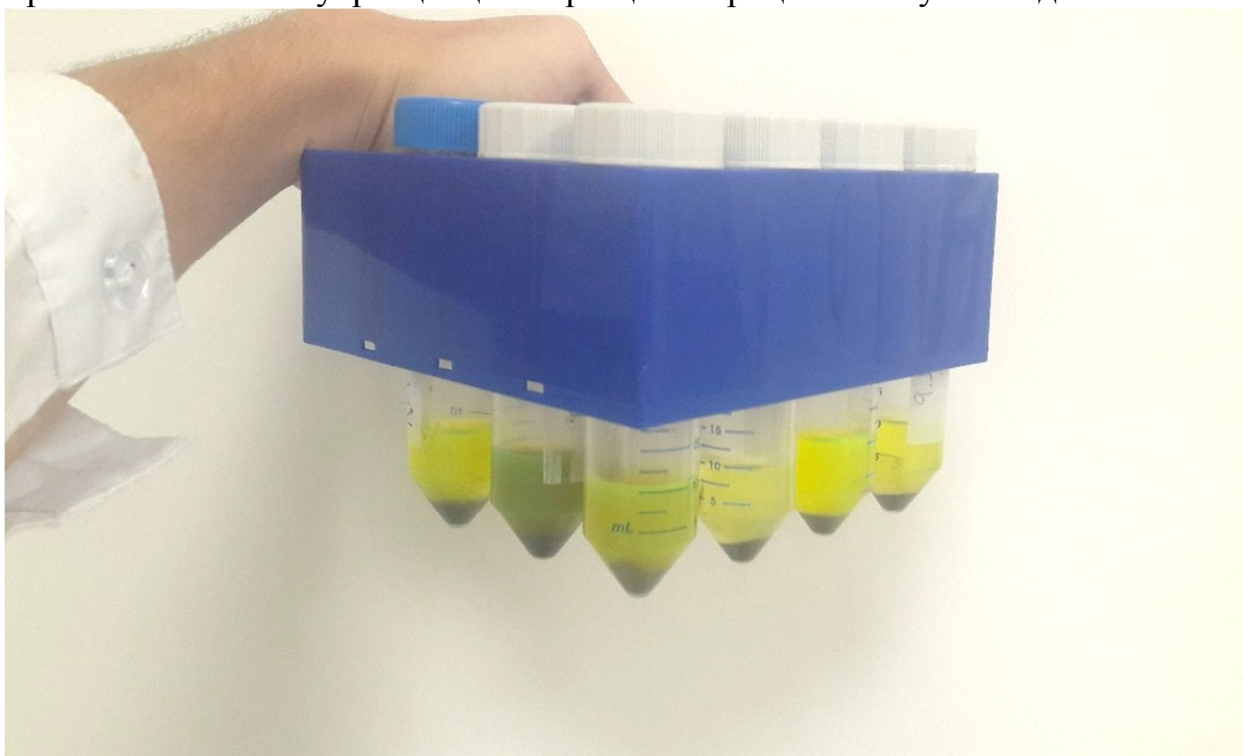
Приложение 16. Количество микроорганизмов в пробах.

Источник образца	Количество микроорганизмов в воде, кл/мл
Канал	$7,4 * 10^3$
Море	$2,1 * 10^3$
Имер.оз.	$5,4 * 10^2$
р.Мзымта	$4,2 * 10^2$

Приложение 17. Результаты FDA-теста, полученные с помощью колориметра



Приложение 18. Флуоресценция образцов в процессе получения данных



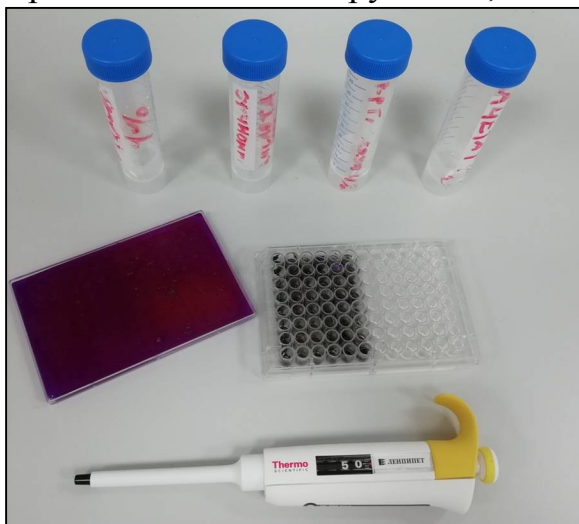
Приложение 19. Результаты первого часа

		1	2	3	4	5	6	
(для пригото	1%	Мор. дно нефть	Мзы	Канал нефть	Мор. дно	Канал	Имеретинское оз.	
A	Глюкоза	0	0	0	0	0	0	0
B	Ацетат Na	0	0	0	0	0	0	0
C	Лимонная к.	0	1	1	0	1	0	3
D	Глицерол	0	0	0	0	0	0	0
E	Сахароза	0	0	0	0	0	0	0
F	Янтарная к.	0	1	1	1	1	0	4
G	Малоновая к.	0	0	1	1	1	0	3
H	H ₂ O	0	0	0	0	0	0	0
		0	2	3	2	3	0	

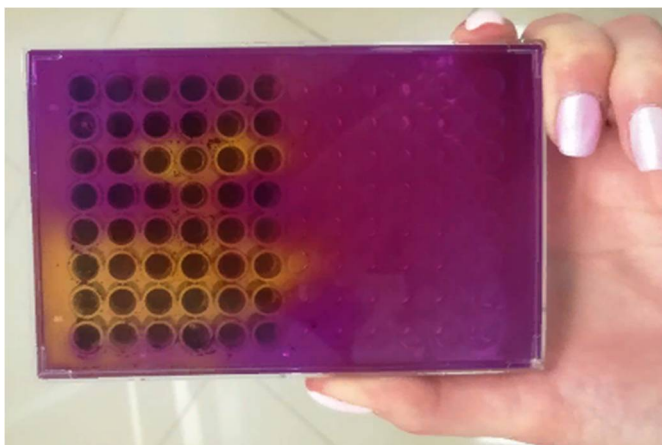
Приложение 20. Результаты первых 19 часов

		1	2	3	4	5	6	Сумма
(для пригото	1%	Мор. дно нефть	Мзымта	Канал нефть	Мор. дно	Канал	Имеретинское оз.	
A	Глюкоза	0	0	0	0	0	0	0
B	Ацетат Na	0	0	0	0	0	0	0
C	Лимонная к.	0	0	2	1	1	0	4
D	Глицерол	0	0	0	1	0	0	1
E	Сахароза	1	0	1	1	0	0	3
F	Янтарная к.	1	1	1	1	1	1	6
G	Малоновая к.	1	1	2	1	1	0	6
H	H ₂ O	1	0	0	1	0	0	2
Сумма		4	2	6	6	3	1	

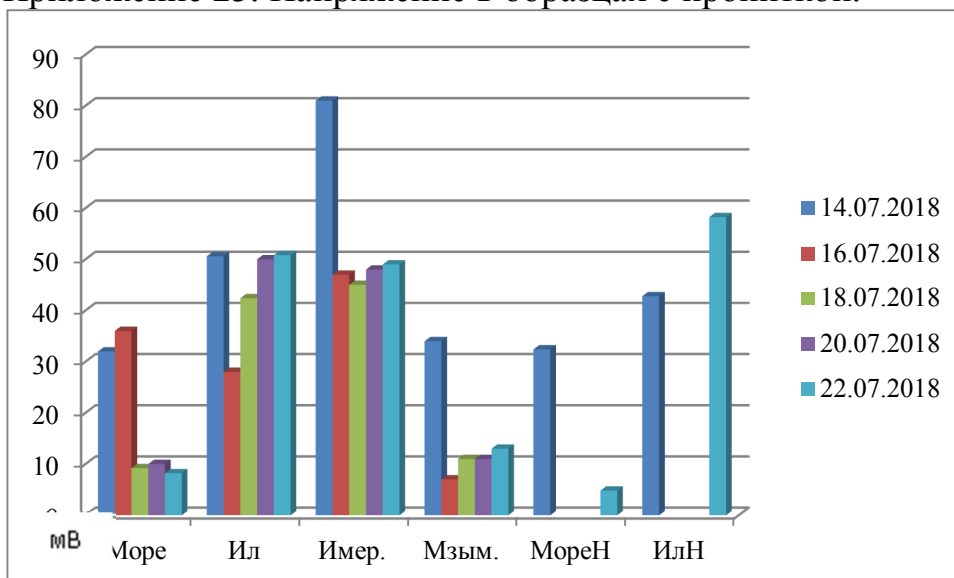
Приложение 21. Инструменты, использовавшиеся для проведения МРТ.



Приложение 22. Визуальный результат МРТ. Над ёмкостями, в которых наблюдается большая дыхательная активность, наблюдается пожелтение cresol-red.



Приложение 23. Напряжение в образцах с пропиткой.



Приложение 24. Промежуточные значения полного факторного эксперимента

№ Варианта	Матрица планирования		Рез-ты опыта Y	Расчёт коэф. регрессии		Коэф. регрессии	Эффекты
	X1 – (S анода)	X2 - пропитка		1 этап	2 этап		
1	-	-	0,9	5,2	18,9	4,725	B0
2	+	-	4,3	13,7	13,1	3,275	B1
3	-	+	2	3,4	8,5	2,125	B2
4	+	+	11,7	9,7	6,3	1,575	B12

Приложение 25. Формула, по которой проводился расчёт

$$\tilde{a}_k = \frac{1}{2^n} \sum_{i=0}^{2^n} y_i \tilde{x}_{ki}$$

Приложение 26. Данные по напряжению в пробах с добавлением нефти

