

УДК 573.6.086.83
© 2013

О.М. ОНИЩЕНКО,
аспірант

А.І. ДВОРЕЦЬКИЙ,
доктор біологічних наук

МІКРОВОДОРОСТІ ЯК
ВІДНОВЛЮВАНИЙ
БІОЛОГІЧНИЙ РЕСУРС
ДЛЯ ПОТРЕБ СІЛЬСЬКОГО
ГОСПОДАРСТВА

Обговорюється потенціал використання зелених мікроводоростей у сільському господарстві. Досліджуються параметри скерованого високопродуктивного культивування в умовах природного сонячного освітлення. Порівнюється продуктивність штаму хлорели за інтенсивного та екстенсивного культивування в умовах, що імітують щільність сонячної енергії, характерну для кліматометеорологічних умов України.

Розробка методів раціонального використання водних організмів у сільському господарстві є одним із пріоритетних напрямів розвитку вітчизняної аквакультури.

Досвід використання мікроводоростей налічує декілька тисячоліть, але способи скерованого одержання біомаси відомі людству не так давно. Базові методи культивування мікроводоростей, що покладені в основу сучасних технологій, були розроблені в XIX–XX ст. [5].

Поштовхом для розвитку галузі стала розпочата в США в середині 50-х років минулого століття програма Aquatic Species Program зі статусом національної. Учені домоглися вивчити усі аспекти культивування та використання мікроводоростей [7].

Водночас цей напрям розвивався і у Радянському Союзі. На Дніпропетровщині, наприклад, роботи велися в шойно заснованій лабораторії космічної гідробіології. Завідувач лабораторії професор Мельников започаткував новий напрям з вивчення культур зелених мікроводоростей, як автотрофної ланки замкнених екологічних систем. Вітчизняними видатними вченими була створена фундаментальна наукова база, яка включала вивчення практичних аспектів культивування [1].

Аналізуючи світовий та вітчизняний досвід, можна відзначити, що зелені одноклітинні мікроводорості містять унікальний комплекс біологічно активних компонентів та мікронутрієнтів [2]. Завдяки розміру ~ 50 мк їх продуктивність на площу на порядок – на два перевищує продуктивність наземних культур, адже, за правилом Рубнера [4], рі-

вень енергетичного обміну пропорційний не масі, а площі поверхні організмів. Те саме стосується і рівня мінерального обміну порівняно з вищими рослинами.

Ці особливості культур і визначають найбільш перспективні галузі використання у сільському господарстві.

По-перше, вже багато років відома ефективність мікроводоростей, як кормових добавок для тварин. Вітчизняна та зарубіжна практика показала високу дієвість, зокрема, хлорели, якщо ввести її в раціон сільськогосподарських тварин [2, 6].

По-друге, забезпечення енергетичних потреб господарства. Біомаса може бути сировиною для виробництва екологічно чистих енергоносіїв, що не потребує використання посівних площ для її отримання.

По-третє, очищення стічних вод. Сільськогосподарський стік забруднений, як правило, лише біогенами, а це робить його ідеальним живильним середовищем для зелених мікроводоростей, які дуже ефективно усувають забруднення із води, фіксуючи біогени у своїй масі [6].

Отже, потенціал їх використання для сільського господарства є незаперечним.

З огляду на викладене, актуальним завданням сьогодні є розробка ефективних та дешевих систем скерованого культивування, що можуть бути адаптовані в подальшому для великомасштабного використання на сільськогосподарських комплексах.

Система для культивування, що виправдовує себе економічно у сільському госпо-

дарстві, повинна відповідати трьом основним критеріям:

1) максимальний рівень конверсії факторів росту (біогени, вуглецевий субстрат – CO₂, енергетичний субстрат – світло);

2) легка можливість масштабування на площі;

3) низька собівартість конструкції [3].

Розглянемо лише перший критерій, оскільки другий і третій стосуються інженерно-технічних питань.

Швидкість росту, або поглинання клітинами мінерального та вуглецевого субстрату описується рівнянням Моно, що є похідним від рівняння Міхаеліса-Мента. Із цього випливає, що для підтримання максимальної швидкості росту висока концентрація субстрату має підтримуватися постійно. Метод, що задовольняє цьому критерію називається fed-batch (дозування за потребою). Це спосіб інтенсивного культивування, а накопичувальна культура – екстенсивне культивування [5].

Доцільним є використання тільки сонячного освітлення у системах культивування, а штучним джерелам відводиться лише допоміжна роль, адже конверсія енергії в системі штучного освітлення надто низька [8].

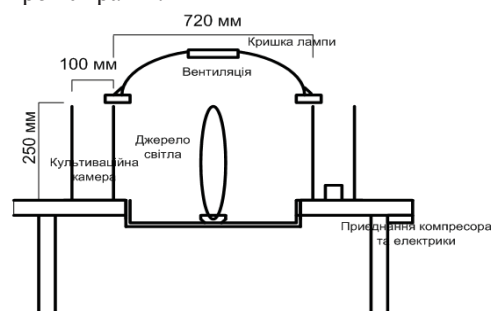
З огляду на викладене, метою нашого дослідження було оцінити потенціал продуктивності штаму хлорели в умовах, що імітують умови сонячного освітлення у широтах України при інтенсивному та екстенсивному культивуванні.

Матеріали та методи їх дослідження.

Для проведення цього дослідження, у рамках творчого співробітництва з Київським інститутом автоматики, був розроблений експериментальний зразок фотобіореактора для керованого культивування фотосинтезуючих мікроорганізмів у рідких культуральних середовищах. При цьому були використані загальноприйняті принципи створення біотехнологічного устаткування. Фотобіореактор має шість плоско-паралельних камер товщиною 10 см, що дозволяє уникнути самозатемнення в культурі.

Джерелом освітлення слугує натрієва газорозрядна лампа Plantstar фірми Osram, що має спектр випромінювання дуже близький

до видимої частини сонячного спектра (рисунк). Лампа розташована в центрі гексагона, який утворений шістьо культуральними камерами таким чином, щоб освітлювана поверхня кожної камери приймала 12 кВт/м² світлової енергії на день. За допомогою гелевих плівок Neutral spot density 0,6 виробництва фірми Kodak, які блокують 50 % світла усього видимого спектра, була встановлена щільність випромінювання 6 кВт/м² на день, що відповідає умовам інсоляції для середніх широт України.



Схематичне зображення конструкції фотобіореактора

Забезпечення мінеральним та вуглецевим субстратом виконувалося відповідно до загальноприйнятих методів. Живильне середовище, що використовувалося для культивування – “В3”, розроблено в колекції культур Utex, США. Насичення CO₂ забезпечувалося за допомогою диспенсерів, приєднаних до балона. Значення рН підтримували на рівні 6,7–6,9, що відповідає рівню концентрацій вуглекислоти 12–25 мг/дм³. Культивування проводили з періодом день/ніч – 14/10 год. Досліджували культуру *Chlorella ellipsoidea* (Utex, США) за умов двох різних методів забезпечення субстратом (накопичувальна культура та фед-бетч).

Інокулювали камери – фед-бетч з високою концентрацією та накопичувальну – з низькою з розрахунку 1 та 0,1 г/дм³ відповідно. Концентрації та стартовий об’єм розраховували так, щоб початкова біомаса та потоки субстратів були еквівалентні для обох випадків. Тобто в камері фед-бетч у ході експерименту збільшувався об’єм за стабільної концентрації, а в камері накопичувального культивування збільшувалася концентрація за постійного об’єму.

Контролювали, як змінні, два параметри: рівень чисельності клітин – за допомогою підрахунку в камері Горяєва та динаміку зміни біомаси, яку визначали методом зважування.

Результати досліджень та їх аналіз. Регресійний аналіз даних показав, що у фід-бетч камері середнє значення для швидкості подвоєння становило 15,5 год. Рівняння росту біомаси виглядало як $Y(x) = 0,325 \cdot \exp(0,044 \cdot x)$, де 0,044 – коефіцієнт швидкості росту, або μ .

У накопичувальній культурі інтегральне значення циклу подвоєння склало 28 год. Якщо брати до уваги десятигодинний нічний період, то це відповідає 6–18 год циклу подвоєння біомаси.

Рівняння росту в накопичувальній культурі виглядало як $Y(x) = 0,478 \cdot \exp(0,019917 \cdot x)$, де 0,02 – коефіцієнт швидкості росту, або μ . Тривалі проміжки без світла зумовили те, що культура не утримувалася на стадії експоненціального росту постійно, а переходила від лаг-фази до експоненційної, але інтегральне рівняння, звісно, мало вигляд експоненти.

Упродовж експерименту камера з фід-бетч культурою мала досить стабільну чисельність клітин в об'ємі, коефіцієнт швидкості росту чисельності клітин дорівнював 0,067 ($R = 0,94$). Інтегральне рівняння для росту чисельності клітин виглядало як $Y(x) = 23913291 \cdot \exp(0,067 \cdot x)$.

Швидкість росту чисельності клітин трохи вища за швидкість росту біомаси, це зумовлено тим, що клітини спочатку діляться, а потім ростуть до наступного циклу поділу.

У накопичувальній культурі поділ клітин теж був швидшим, ніж приріст біомаси: 0,057 ($R = 0,90$). Інтегральне рівняння для росту чисельності клітин виглядало як $Y(x) = 1573990 \cdot \exp(0,057 \cdot x)$.

Кореляційні коефіцієнти між чисельністю клітин та масою становили в накопичувальній та фід-бетч камерах 1 та 0,99 відповідно.

Результати експерименту наявно демонструють, що інтенсивний метод культивування є більш ефективним для отримання високих рівнів продуктивності біомаси на площу.

Висновки

За умов використання сонячного освітлення з природним циклом дня та ночі можна досягти високих показників росту біомаси в закритих фотобіореакторах.

Щільність випромінювання сонячної енергії, що є усередненою для широт України, може забезпечувати нормальну продук-

тивність зелених мікродоростей у системах скерованого культивування.

Під час розробки технічних вимог та дослідження операційних параметрів для великомасштабних систем доцільним є орієнтуватися на інтенсивні методи культивування.

Бібліографія

1. Музафаров А.М. Культивирование и применение микродоростей / А.М. Музафаров, Т.Т. Таубаев. – Ташкент : Фан, 1948. – 133 с.
2. Дворецкий А.І. Перспективи аквакультури в умовах космічних польотів / А.І. Дворецкий, Л.А. Байдак // Рибогосподарська наука України. – 2009. – № 2. – С. 17–19.
3. Анисимов О.Л. Фотоэнергетические характеристики биосинтеза хлореллы в опытно-промышленных культиваторах / О.Л. Анисимов, Ю.Н. Филипповский // Микробиологический синтез. – М., 1978. – № 8. – С. 33–35.
4. Шлегель Г. Общая микробиология / Г. Шлегель; пер. с нем. Г. Шлегель. – М. : Мир, 1987. – 567 с.

5. Andersen R.A. Algal Culturing Techniques / R.A. Andersen. – Elsevier Academic Press. – Burlington, 2005. – 578 p.
6. Bennemann J. Systems and Economic Analysis of Microalgal Ponds for Conversion of CO₂ to Biomass / J. Bennemann, W.J. Oswald. – Department of Energy, 1996. – 235 p.
7. Borowitzka L.J. Industrial production: methods and economics / L.J. Borowitzka, M.A. Borowitzka // Journal of Applied Phycology. – 2004. – Vol. 16, Issue 2. – P. 33–37.
8. Carvalho A.P. Microalgae reactors: A review of enclosed systems and performances / A.P. Carvalho, L.A. Meireles // Biotechnology progress. – 2006. – Vol. 3, Issue 1. – P. 1490–1506.

Рецензент – доктор біологічних наук, професор Ю.І. Грицан