

**МЕЩЕРЯКОВА Ю.В.**

## **КУЛЬТИВИРОВАНИЕ МИКРОВОДОРОСЛИ ХЛОРЕЛЛА**

***Аннотация.** Подобраны оптимальные условия культивирования микроводоросли хлорелла: температура, освещение, питательная среда, подача углекислого газа. С помощью хроматографического метода определен основной состав липидной фракции.*

***Ключевые слова:** липиды, освещение, питательная среда, температура, условия культивирования, фотобиореактор, хроматограмма.*

### **MESHCHERYAKOVA YU.V. CULTIVATION XLORELLA**

***Summary.** Optimal cultivation conditions xlorella: temperature, light, nutrient medium, supply of carbon dioxide. By chromatographic method defined the main composition of the lipid fraction.*

***Keywords:** lipids, lighting, nutrient medium, temperature, conditions of cultivation, fotobioreactor, chromatogram.*

Объектом нашего исследования является штамм микроводоросли *chlorella vulgaris* ИФР № С-111. Штамм не требователен к питательной среде, углекислому газу, механическому перемешиванию и обладает высокой продуктивностью. Для этого штамма характерна исключительная приспособленность к условиям аквакультуры. Для его культивирования не требуется соблюдения стерильности. При культивировании он соблюдает монокультуру штамма [1]. Хлорелла обладает большим запасом хлорофилла и комплексом редчайших питательных веществ, участвует в процессе фотосинтеза, поглощая углекислый газ, насыщая воздух кислородом.

Производство биотоплива из микроводорослей мы разделили на три этапа. Первый – культивирование микроводоросли с целью получения биотоплива, оптимизация параметров культивирования. Второй – разработка технологии получения биотоплива, подбор оборудования. Третий – технико-экономическое обоснование.

Урожайность микроводорослей зависит от условий окружающей среды: температуры, освещенности, питательной среды, рН, подачи углекислого газа, кислорода.

Для культивирования штаммов сконструирована установка объемом 20 литров. В качестве питательной среды использовали стандартную среду Тамия. В исходном штамме содержалось около 3 млн. кл./мл. Штамм снабжается постоянной подачей воздуха, который служит источником углекислого газа, кислорода и создается дополнительное перемешивание суспензии. Осуществляется постоянное освещение люминесцентными лампами ЛХБ-20.

Одним из факторов повышения урожайности является температура. Суспензию хлореллы помещали в термостат с температурами: 15, 25, 35 °С на трое суток. На рисунке 1 представлен график зависимости концентрации клеток от температуры. Общее количество микроорганизмов в суспензии определяли с помощью метода прямого подсчета клеток в камере Горяева [2]. Повышение температуры приводит к увеличению

концентрации клеток. При температуре 33-35°C насчитывается максимальное количество клеток. Свыше 36 °C концентрация клеток снижается. Численность водорослей при температуре культивирования 15 °C составила 5 млн. кл./мл, при 25 °C 25 млн. кл./мл, а при 35 °C 55 млн. кл./мл. Культивирование при температуре свыше 36 °C плотность суспензии составила 51 млн. кл./мл.

Культивировать хлореллу можно как при солнечном, так и при искусственном освещении. Также освещенность суспензии определяется конструкцией фотобиореактора. Исследовалось влияние освещенности на урожайность хлореллы при солнечном, искусственном освещении в обычном и трубчатом фотобиореакторе. Результаты представлены на рисунке 2.

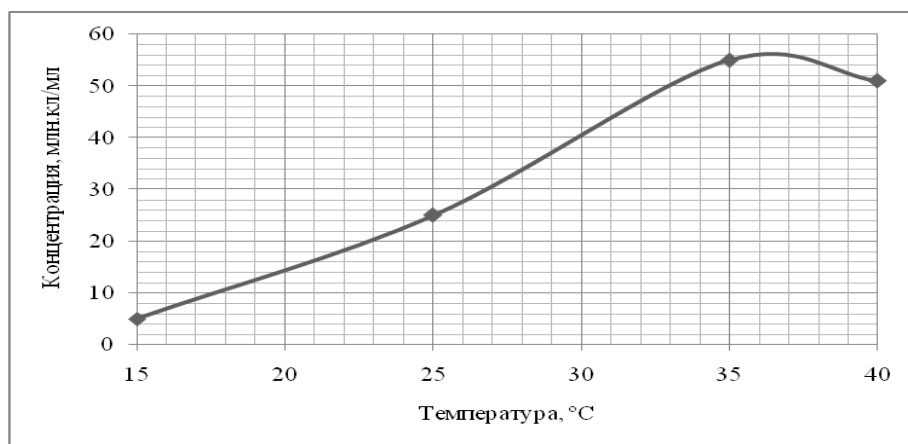


Рисунок 1. График зависимости концентрации клеток от температуры

Замечено, что максимальный прирост биомассы наблюдается в августе при солнечном освещении в трубчатом фотобиореакторе, т.е. в самый жаркий период времени. Цвет суспензии становился насыщенно зеленым. Хотя и в обычном фотобиореакторе и в трубчатом при искусственном освещении также

высокий прирост биомассы. Но в сентябре месяце картина изменилась. При солнечном освещении прирост биомассы сократился, что связано с уменьшением светового дня. А фотобиореакторах при искусственном освещении наблюдается повышение урожайности, особенно в трубчатом.

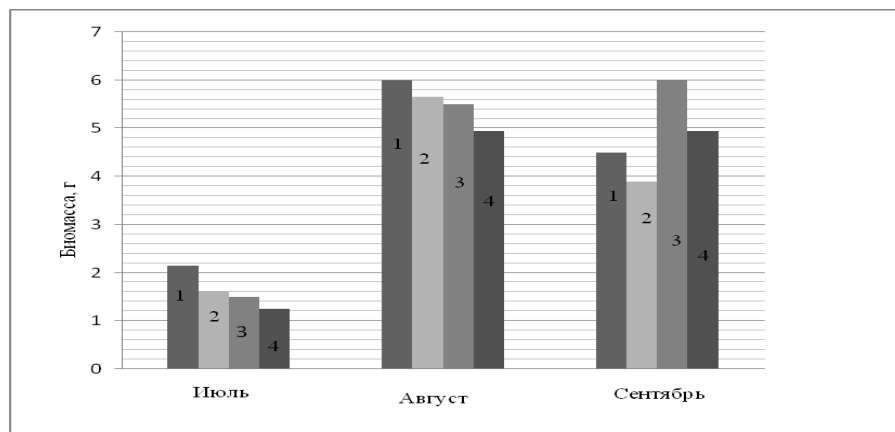


Рисунок 2. Диаграмма зависимости биомассы от освещенности и конструкции фотобиореактора: 1 – солнечное освещение; трубчатый фотобиореактор; 2 – солнечное освещение, фотобиореактор; 3 – искусственное освещение, трубчатый фотобиореактор; 4 – искусственное освещение, фотобиореактор.

Таким образом, культивировать хлореллу можно при солнечном освещении, в летний период, в остальное время желательнее культивировать в помещении с использованием искусственного освещения.

На рисунке 3 представлено влияние интенсивности освещения на прирост биомассы. Наибольший прирост наблюдается при интенсивности 20000 – 30000 люкс.

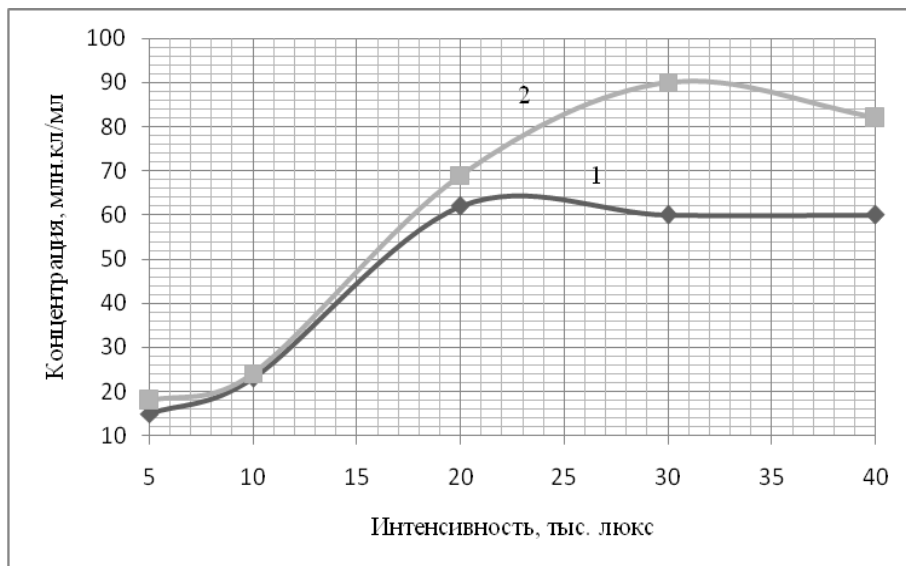


Рисунок 3. График зависимости концентрации клеток от интенсивности освещения: 1 – в обычном фотобиореакторе; 2 – в трубчатом фотобиореакторе.

Однако в двух фотобиореакторах наблюдался неодинаковый прирост биомассы. В трубчатом фотобиореакторе рост штамма происходит интенсивнее. Это объясняется равномерным освещением и не большой толщиной суспензии в трубчатом фотобиореакторе по сравнению с обычным фотобиореактором.

При увеличении плотности клеток появляется необходимость в увеличении мощности подачи углекислого газа.

Культивировали хлореллу на стандартной питательной среде Тамия и на среде с увеличенным содержанием азотных компонентов. Полученную суспензию фильтровали и высушивали до остаточной влажности в сушильном шкафу (таблица).

Различные значения биомассы в опытах после фильтрации объясняется отбором пробы суспензии через разный промежуток времени из фотобиореактора. Интервал отбора проб между 1-ым и 2-ым

опытом составил один день. А между 2-ым и 3-им четыре дня.

При увеличении содержания азотных компонентов в 2 раза в среде наблюдается прирост биомассы в среднем на 45 %, а при сокращении рост хлореллы замедляется.

Для производства биодизельного топлива ценность представляют растительные масла (липиды) микроводорослей. Основной компонент растительных масел – это сложные эфиры трёхатомного спирта глицерина и высших непредельных алифатических кислот (триацилглицерины) [3].

Полученная биомасса подвергалась экстракции в аппарате Сокслетта, экстрагентом служил хлороформ. Экстрагент выпаривался, а непосредственно липидная фракция анализировалась методом жидкостной хроматографией.

Таблица. Данные материального баланса сушки биомассы

Сырая биомасса, л	Биомасса после фильтрации, г		Биомасса после сушки до постоянного веса, г	
	При выращивании на стандартной среде Тамия	При выращивании на среде с увеличенным содержанием азотных компонентов в 2 раза	При выращивании на стандартной среде Тамия	При выращивании на среде с увеличением концентрации и азотных компонентов в 2 раза
1	1,55	2,15	0,364	0,63
1	0,15	0,45	0,061	0,088
1	1,164	2,01	0,155	1,004

Проведенные хроматографические исследования позволили установить следующее. Основной составной частью липидной фракции являются жирные кислоты: миристиновая, пальмитиновая, линолевая, маргаринавая, линоленовая.

Анализ результатов исследований показал большое содержание в масле микроводоросли миристиновой (51,9%), пальмитиновой (19,8%) и линоленовой (12,4%) кислоты, несколько меньше линолевой (8,9%).

Определены оптимальные условия культивирования микроводоросли *chlorella vulgaris* ИФР № С-111: температура 31-35 °С, культивировать хлореллу можно при солнечном освещении в летний период, в

остальное время желательно культивировать в помещении с использованием искусственного освещения в трубчатом фотобиореакторе, при интенсивности освещения 20 000 – 25 000, 30 000 люкс. С увеличением плотности клеток необходимо увеличивать мощность подачи углекислого газа. Также на ускоренный прирост оказывает дополнительное введение азотных удобрений. Определен предварительный состав липидной фракции. Дальнейшая оптимизация условий культивирования хлореллы направлена на увеличение содержания липидных компонентов в микроводоросли.

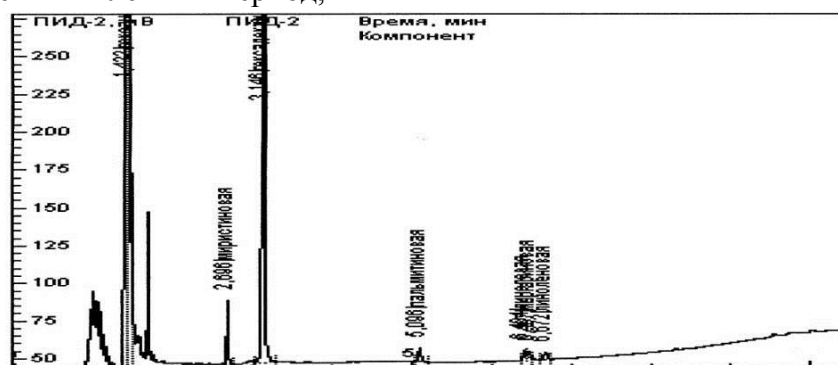


Рисунок 4 – Хроматограмма масла микроводоросли

## **БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК**

Богданов Н.И. Суспензия хлореллы в рационе сельскохозяйственных животных / Н.И.Богданов. - Пенза 2 изд. Перераб. и допол., 2007. - 48 с.

Методы физиолого-биологического исследования водорослей в гидробиологической практике / Л.А. Сиренко [и др.]. – М. – Киев, 1975. – 247 с.

Митусова, Т.Н. Перспективы использования биодизельного топлива / Т.Н. Митусова, М.В. Калинина // Мир нефтепродуктов. – 2005. – № 5. – С. 20-23.

## **ДАнные ОБ АВТОРАХ**

*Мещерякова Юлия Владимировна, аспирант ГНУ Всероссийский научно-исследовательский институт использования техники и нефтепродуктов Россельхозакадемии, [yulya-belova@yandex.ru](mailto:yulya-belova@yandex.ru), 392022, Россия, г. Тамбов, пер. Ново-Рубежный, 28*

## **РЕЦЕНЗЕНТ**

*Акулинин Евгений Игоревич, к.т.н., доцент кафедры "Технологии продовольственных продуктов", начальник управления инновационной деятельности ФГБОУ ВПО "ТГТУ".*