

А. С. ЛЕЛЕКОВ, С. Ю. СКЛЯРЕНКО, Р. Г. ГЕВОРГИЗ

**ОПТИМИЗАЦИЯ РОСТА *SPIRULINA PLATENSIS*
В ПРОТОЧНОЙ КУЛЬТУРЕ**

Проведена оптимизация роста *Spirulina platensis* (Nordst.) Geitl. в квазинепрерывной культуре при различных удельных скоростях протока. Показано, что величина максимального урожая достигается при использовании режима культивирования с максимальной удельной скоростью протока и включением протока в начале линейной фазы роста. Продемонстрировано преимущество проточного метода культивирования по сравнению с накопительным.

Spirulina platensis – один из наиболее распространенных объектов современной биотехнологии. Возрастающие потребности в биомассе и ее составляющих привели к разработке высокопродуктивных технологий производства *S. platensis* в управляемых условиях. Строго управляемые условия позволяют формализовать весь процесс производства биомассы с высокой степенью точности с заданным биохимическим составом. Организация таких условий в промышленных масштабах требуют специального оборудования, как правило, включающего искусственные источники света, что в значительной степени повышает себестоимость конечного продукта. Особый интерес представляют технологии выращивания *S. platensis* в проточной культуре с использованием естественного освещения, например в обычных сельскохозяйственных теплицах.

Известно, что оптимальная температура для роста *S. platensis* лежит в пределах 33 – 35°C, поэтому при ее культивировании в теплицах существенным является продолжительность теплого сезона и количество солнечных дней. Именно эти обстоятельства определяют промежуток времени культивирования и суммарный урожай на момент окончания процесса культивирования. Величина суммарного урожая также зависит и от самой технологии проточной культуры. Оптимальные значения удельной скорости протока, рабочей плотности культуры, момента включения протока и пр., естественно, приведут к большим значениям суммарного урожая. Как правило, заведомо значения этих параметров неизвестны, поэтому организация нового производства требует решения задач оптимизации.

Цель работы – провести оптимизацию роста *S. platensis* в проточной культуре с использованием ранее разработанной математической модели [4]. А также, провести сравнение расчетных и экспериментальных величин урожая, где под урожаем понимается собранная биомасса за фиксированный промежуток времени культивирования.

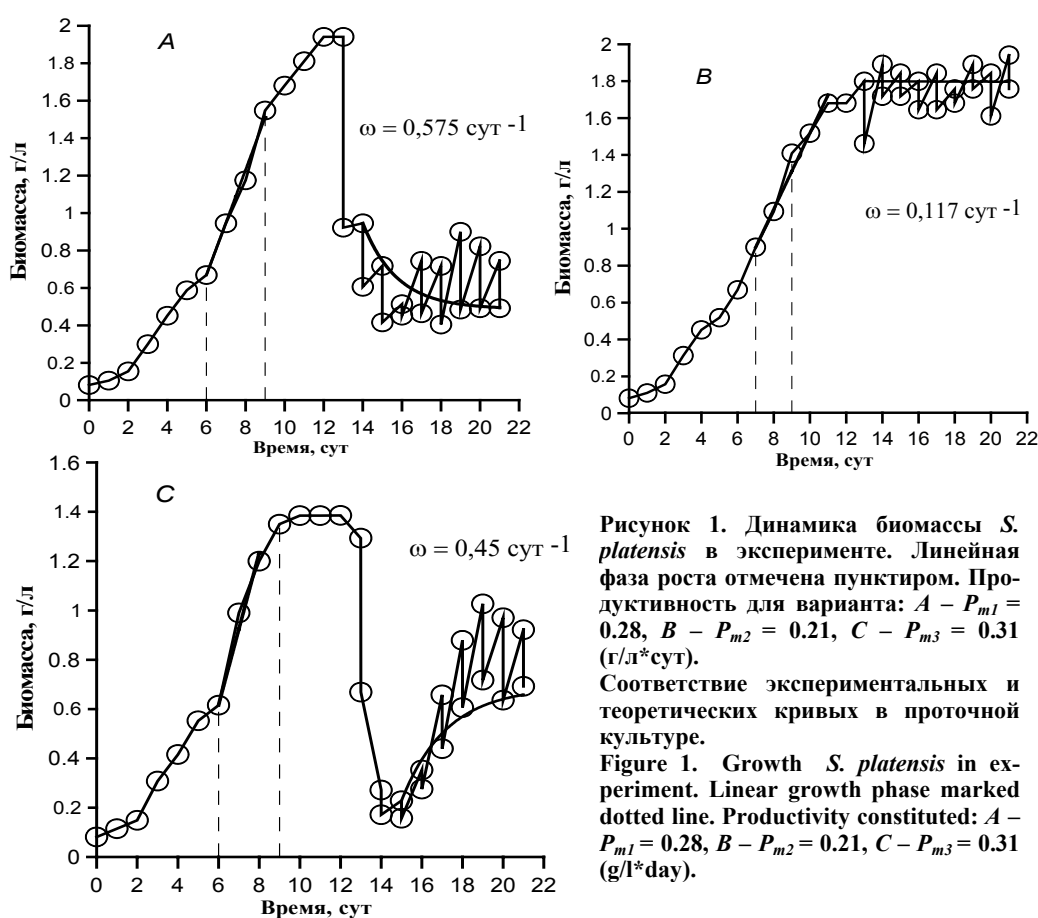
Материал и методы. Использовали культуру *S. platensis* (штамм IBSS-31) [1] из коллекции культур ИнБЮМ НАН Украины. Культиваторами служили стеклянные цилиндрические стаканы объемом 2 литра, которые именовали как варианты **А**, **В** и **С**. Стаканы располагались на люминостае с освещением снизу лампами ЛБ-40, которые дают среднюю освещенность 5 клк. Объем среды составлял 500 мл и на протяжении всего эксперимента оставался неизменным. Рабочий слой культуры – 5 см. Перемешивание культуры осуществлялось посредством барботирования воздуха с помощью компрессора. Испарение воды с поверхности культуры компенсировали добавлением дистиллированной воды. Отбор проб для определения плотности культуры проводили ежедневно. Температура среды колебалась от 27 до 33°C. Прирост биомассы измеряли посредством измерения оптической плотности при длине волны 750 нм в кювете 0,5 см с использованием КФК-2. Эталонной пробой служила питательная среда Заррука. Для перевода единиц оптической плотности в единицы биомассы использовали коэффициент пропорциональности $D = 1,19 \cdot B$ [7].

На тринадцатые сутки эксперимента культуру перевели на квазинепрерывный способ культивирования. Для каждого стакана удельную скорость протока (ω) устано-

© А. С. Лелеков, С. Ю. Скляренко, Р. Г. Геворгиз, 2005

вили в соответствии с расчетными ростовыми характеристиками накопительных кривых (в рамках линейной фазы роста). Для варианта *A* была установлена максимальная удельная скорость протока ($\omega = 0,575 \text{ сут}^{-1}$) с включением протока в начале линейной фазы роста. Для варианта *B* была установлена минимальная удельная скорость протока ($\omega = 0,117 \text{ сут}^{-1}$) с включением протока в конце линейной фазы роста. Значения удельной скорости протока выбраны таким образом, чтобы плотность культуры оставалась на расчетном уровне. Посредством разбавления культуры оптическую плотность в варианте *C* установили на уровне 0,4 ед., что соответствует значению близкому началу линейной фазы роста. Кроме того, установили максимальную ($\omega = 0,45 \text{ сут}^{-1}$) удельную скорость протока среды (в рамках линейного роста).

Результаты и обсуждения. Во всех опытных образцах рост культуры *S. platensis* на накопительном этапе имеет типичную *S* - образную форму. Поскольку продуктивность на линейном участке накопительной кривой максимальна [3], установим границы для линейной фазы роста. Хотя общепринятых алгоритмов расчета не существует [5, 8], на наш взгляд, фаза линейного роста (с 6 по 9 день) четко выделяется у всех кривых.



Используя формулу динамики роста (3) проточной культуры [8], можно рассчитать величину урожая за фиксированный промежуток времени [4]. Для подобных расчетов необходимо знать значение максимальной продуктивности. Эта величина находится из анализа линейной фазы роста культуры, которая и характеризуется максимальной продуктивностью ($P_m = \text{const}$) [5]. Динамика роста на линейной фазе представляется в виде:

$$B = B_L + P_m \cdot (t - t_L) \quad (1),$$

где B_L - плотность культуры в момент начала линейной фазы t_L .

В результате аппроксимации выражением (1) линейной фазы роста были получены значения максимальной продуктивности P_m для каждого варианта (рис. 1).

Зная P_m и величину ω , задаваемую экспериментатором, и момент включения протока, можно записать зависимость, описывающую динамику роста культуры в хемостате [8]:

$$B(t) = \frac{P_m}{\omega} - \left(\frac{P_m}{\omega} - B_0 \right) \cdot e^{-\omega \cdot (t - t_0)}, B_L \leq B_0 \leq B^L \quad (2),$$

где ω – удельная скорость протока, сут⁻¹; t_0 – момент включения протока; t_L – время начала линейного роста; t^L – время конца линейного роста.

Подставим в выражение (2) соответствующие значения P_m и ω для каждого варианта. В результате получим выражения, описывающие динамику биомассы для каждого варианта в проточной культуре:

$$\begin{aligned} B_1 &= 0,28 / 0,575 - (0,28 / 0,575 - 0,945) \cdot \exp(-0,575 \cdot (t-14)) \\ B_2 &= 0,21 / 0,117 - (0,21 / 0,117 - 1,8) \cdot \exp(-0,117 \cdot (t-13)) \\ B_3 &= 0,31 / 0,45 - (0,31 / 0,45 - 0,228) \cdot \exp(-0,45 \cdot (t-15)) \end{aligned} \quad (3)$$

Так как модель (2) не учитывает автоселекционных и адаптационных процессов, моментом включения протока для варианта **A** выбраны 14-е сутки, для варианта **B** – 13-е сутки, для варианта **C** – 15-е сутки.

Для определения величины урожая используем соотношение, полученное в работе [4]:

$$Y = P_m - \left(\frac{P_m}{\omega} - B_0 \right) \cdot \left[1 - e^{-\omega \cdot (t_f - t_0)} \right] \quad (4),$$

где Y – биомасса, собранная за промежуток $t_f - t_0$ (урожай), г·л⁻¹; P_m – максимальная продуктивность, г·л⁻¹·сут⁻¹; ω – удельная скорость протока, сут⁻¹.

Подставим значения P_m и ω в выражение (4):

$$\begin{aligned} Y_1 &= 0,28 - \left(\frac{0,28}{0,575} - 0,945 \right) \cdot \left[1 - e^{-0,575(t_f - 14)} \right] \\ Y_2 &= 0,21 - \left(\frac{0,21}{0,117} - 1,8 \right) \cdot \left[1 - e^{-0,117(t_f - 13)} \right] \\ Y_3 &= 0,31 - \left(\frac{0,31}{0,45} - 0,228 \right) \cdot \left[1 - e^{-0,45(t_f - 15)} \right] \end{aligned} \quad (5)$$

Таким образом, задавая время окончания сбора урожая t_f , можно рассчитать величину Y для каждого варианта. Проведем сравнение собранного урожая спирулины в эксперименте и его расчетной величины. Для этого, с момента включения протока t_0 до момента окончания эксперимента t_f (см. рис. 1), суммируем величины сливаемой биомассы (табл. 1).

Таблица 1. Сравнительные значения расчетного и экспериментально полученного урожая
Table 1. Comparative values in theory of the forecast and experimentally got harvest

	<i>A</i>	<i>B</i>	<i>C</i>
Теоретический расчет, г/л	2,41	1,68	1,43
Экспериментальная величина, г/л	2,29	1,61	1,51
Время культивирования, сут	7	8	6

Также проведем сравнение величины урожая, полученного накопительным и проточным методами культивирования. В первом случае урожаем считается:

$$Y = V * (B_{max} - B_0),$$

где B_{max} – максимальная плотность, г/л;

B_0 – начальная плотность культуры, г/л;

V – объем культиватора, л.

Если принять объем культиватора $V = 1$ л, то урожай можно считать на литр культуры. На накопительном этапе B_{max} была достигнута на 13 сутки, следовательно, для адекватного сравнения, урожай в проточной культуре будем считать на момент времени $t_f = 13$. Расчет произведем в вариантах *A* и *B*, что соответствует максимальному и минимальному урожаю в проточной культуре [4] (табл. 2).

Таблица 2. Сравнение величины урожая в накопительной ($\omega = 0$) и проточной культуре при максимальной ($\omega = 0, 575$) и минимальной ($\omega = 0, 117$) удельной скорости потока
Table 2. Comparison the size of harvest of the accumulative and queasycontinuous culture

	<i>A</i>	<i>B</i>
Накопительная культура, г/л	1,86 ($\omega = 0$)	1,76 ($\omega = 0$)
Квазинепрерывная культура, г/л	4,10 ($\omega = 0, 575$)	2,73 ($\omega = 0, 117$)

Полученные значения показывают, что за одинаковые промежутки времени даже минимальный урожай в проточной культуре (в рамках линейной фазы роста) превышает урожай в накопительной культуре более чем в 1,5 раза.

Закключение. Проведенные эксперименты полностью подтверждают подход, предложенный в работе [4]. Следовательно, максимальной величины урожая можно достичь при работе с максимальными удельными скоростями и включением потока в начале линейной фазы роста.

1. Брянцева Ю. В., Дробецкая И. В., Харчук И. А. Характеристика цианобактерии *Spirulina (Arthrospira) platensis*. // Экология моря. – 2006. – Вып. 70. – С. 24 - 30.
2. Владимирова М. Г., Семенов В. Е. Интенсивная культура одноклеточных водорослей. – М., 1962. — 60 с.
3. Геворгиз Р. Г., Боровков А. Б. Динамика биомассы *Dunaliella salina* в условиях непрерывного культивирования. // Экология моря. - 2005. - Вып. 67. - С. 35 - 37.
4. Геворгиз Р. Г., Боровков А. Б., Ширяев А. В. Модель оптимизации роста микроводорослей в хемостате. // Альгология. (В печати)
5. Геворгиз Р. Г., Лелеков А. С. Применение простейших моделей роста микроводорослей для определения основных параметров накопительных кривых. // Экология моря. – 2005. – Вып. 67. – С. 38 – 43.
6. Дробецкая И. В., Минюк Г. С., Тренкевич Р. П. и др. Ростовые и биохимические характеристики *Spirulina platensis* (Nordst.) Geitler при различных условиях минерального питания. // Экология моря. - 2001. - Вып. 56. - С. 41 - 46.

7. Дробецкая И. В. Влияние условий минерального питания на рост и химический состав *Spirulina platensis* (Nordst.) Geitl.: дис. канд. биол. наук. – Севастополь, 2005. – 188 с.
8. Тренкениш П. П. Простейшие модели роста микроводорослей 2. Квазинепрерывная культура. // Экология моря. – 2005. – Вып. 67. – С. 98 – 110.
9. Brown M. R., Jeffrey S. W., Garland C. D. Nutritional aspects of microalga used in mariculture: a literature review // Rep. CSIRO Mar. Lab. - 1989. - №. 205. - 50 p.
10. Vonshak A. Laboratory techniques for the cultivation of microalgae // Handbook of microalgal mass culture. - Boca Raton, Fl.: CRC Press, 1986. - P. 117 - 145.

Институт биологии южных морей НАН Украины,
г. Севастополь

Получено 13.11.2005

A. S. LELEKOV, S. Yu. SKLYARENKO, R. G. GEVORGIZ

OPTIMIZATION OF GROWTH OF THE *SPIRULINA PLATENSIS* IN QUEASYCONTINUOUS CULTURE

Summary

Optimization of growth *Spirulina platensis* in queasycontinuous culture is lead at various specific speeds of a channel. It is shown, that the size of a top yield is achieved at use of a cultures mode with the maximal specific speed of a channel and inclusion of a channel in the beginning of a linear growth phase. Advantage of a flowing method in comparison with accumulative culture is shown.