

ПРОДУКТИВНОСТЬ И КПД ФОТОБИОСИНТЕЗА *SPIRULINA (ARTHROSPIRA) PLATENSIS* ПРИ РАЗЛИЧНОМ СПЕКТРАЛЬНОМ СОСТАВЕ СВЕТОДИОДНОГО ИЗЛУЧЕНИЯ

Гаврилов П.Е.¹, Костылев А.А.¹, Лелеков А.С.², Малахов А.С.³

¹ Севастопольский государственный университет

ул. Университетская, 33, г. Севастополь, 299053, РФ; e-mail: havrilovpyotr@gmail.com

² Институт морских биологических исследований им. А.О. Ковалевского РАН
пр. Нахимова, 2, г. Севастополь, 299011, РФ; e-mail: a.lelekov@yandex.ru

³ Национальный исследовательский Томский политехнический университет
пр. Ленина, 30, г. Томск, 634050, РФ; e-mail: mac89@mail.ru

Поступила в редакцию: 02.07.2018.

Аннотация. Проведено исследование роста накопительной культуры *Spirulina platensis* при различном спектральном составе светодиодного излучения в плоскопараллельных фотобиореакторах. В опытных вариантах использовали мощные (50 Вт) светодиоды теплого, холодного света, а также фитосветодиод. В контрольном варианте источником света являлась световая решётка из 10 люминесцентных ламп TDM Electric 18 Вт. Показано, что максимальная продуктивность *S. platensis* не зависит от спектра излучения светодиода и составляет 0,37 г СВ·л⁻¹·сут⁻¹. При этом в контрольном варианте максимальная продуктивность была на 30 % ниже. Максимальное значение биомассы *S. platensis* достигнуто при использовании мощного светодиода холодного света. На линейной фазе роста рассчитана эффективность преобразования световой энергии (КПД фотобиосинтеза): для фитосветодиода данная величина была минимальна и составила 1,67 %; для теплого светодиода – максимальна и равнялась 6,47 %.

Ключевые слова: фотоавтотрофы, накопительная культура, максимальная продуктивность, фотобиосинтез, мощный светодиод.

Культура микроводорослей используется в качестве модельного объекта при исследовании влияния абиотических факторов среды на скорость роста и биосинтез низших фотоавтотрофов. Одним из наиболее исследованных видов является цианобактерия *Spirulina (Arthrospira) platensis*, которая также выращивается в промышленных масштабах как источник белка, витаминов и др. биологически ценных веществ. Все внешние факторы, влияющие на скорость роста *S. platensis*, можно разделить на две группы: 1. Световое обеспечение; 2. Минеральное обеспечение биогенными элементами. Свет является основным фактором среды, который определяет скорость роста культуры *S. platensis*. Помимо скорости роста, от световых условий, в которых находятся клетки, зависит их биохимический состав. Поэтому при исследовании фотобиосинтеза культур микроводорослей важно знать не только общее количество энергии ФАР, приходящей на рабочую поверхность культиватора, но и её спектральный состав. В литературе имеются сведения, что при избытке красного света в клетках *S. platensis* происходит перераспределение синтеза компонентов комплексов фотосистем, при преобладании жёлтого света происходит увеличение скорости синтеза фикоцианина [1-3].

Среди современных источников искусственного освещения для лабораторных и промышленных задач по выращиванию микроводорослей на первое место выходят светодиоды. Они обладают довольно высоким КПД (по сравнению с другими источниками света) передачи электрической энергии в световую. Кроме того, использование комбинации светодиодов позволяет получить заданный спектральный состав света, что имеет значение при выращивании фотоавтотрофных организмов. Последнее время получили распространение мощные светодиоды, которые, по сути, являются комбинацией нескольких узкополосных светодиодов. Достоинством мощных светодиодов можно отнести не высокую стоимость, разнообразие спектров излучения, для культивирования микроводорослей или цианобактерий в лабораторных условиях достаточно одного светодиода, что значительно упрощает и удешевляет конструкцию световой решетки, которая обычно собирается из набора люминесцентных ламп.

Целью работы являлось определение максимальной скорости роста и эффективности преобразования энергии накопительной культуры *S. platensis* при её выращивании на различных источниках светодиодного излучения.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В качестве объекта исследования была выбрана *Spirulina (Arthrospira) platensis*, полученная из коллекции Института морских биологических исследований им. А.О. Ковалевского РАН, г. Севастополь. *S. platensis* выращивали в унифицированной лабораторной установке [4] на питательной среде Заррук, фотобиореактор плоскопараллельного типа толщиной 2 см, площадь рабочей поверхности 0,06 м². Температура поддерживалась на уровне 24±1 °С. В различных опытных вариантах в качестве источника освещения использовали мощный (50 Вт, напряжение питания 12 В) светодиод теплого света, мощный светодиод холодного света, фитосветодиод. В качестве контрольного варианта использовали световую решетку из десяти люминесцентных ламп TDM

Electric 18 Вт. Освещённость рабочей поверхности фотобиореактора во всех вариантах была одинаковой и составляла 10 клк.

В эксперименте проводили измерение температуры, оптической плотности культуры микроводорослей, а также сухой биомассы. Температуру суспензии измеряли ртутным термометром непосредственно в фотобиореакторе, абсолютная погрешность измерений составляла 0,5°C. Освещённость регистрировали люксметром Ю-116. Отбор проб для определения оптической плотности проводили из разных точек внутри фотобиореактора: отбирали по 5 мл суспензии клеток водорослей, получая таким образом «среднюю пробу» объёмом 30 мл. В средней пробе после перемешивания определяли коэффициент пропускания. Оптическую плотность рассчитывали по формуле: $D = -\lg(T)$, где T – величина пропускания, определяемая на фотометре КФК-2 при длине волны 750 нм, погрешность измерения величины пропускания не превышала 1 %. При пересчёте единиц оптической плотности на сухую биомассу (СВ) использовали эмпирический коэффициент 0,88. Измерения проводили относительно дистиллированной воды. Кюветы располагали максимально близко к фотоприёмнику, что позволяло снизить ошибку измерения оптической плотности культуры, связанную со светорассеянием. При выходе показаний прибора за границы рабочего диапазона (от 30 до 70 % пропускания), проба разбавлялась дистиллированной водой. Для определения спектра излучения источников света использовали спектроколориметр ТКА-ВД/02 и программное обеспечение "Спектрофотометр".

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Накопительная кривая является основной характеристикой роста культуры микроводорослей в тех или иных условиях. По форме накопительной кривой можно определить факторы, ограничивающие величину продуктивности. Обычно на накопительной кривой можно выделить несколько фаз роста, каждая из которых характеризуется некоторым видоспецифическим параметром. При переходе от одной фазы к другой происходит смена лимитирующего фактора, при этом может наблюдаться резкое изменение угла наклона кривой к оси абсцисс.

На рисунке 1а представлена накопительная кривая роста культуры *S. platensis* в контрольном варианте (спектр излучения люминесцентных ламп – рис. 1б).

Анализируя накопительную кривую на рис. 1а, можно отметить наличие экспоненциальной, линейной, фазы замедления роста и стационарной фазы. Определим кинетические параметры роста культуры *S. platensis*. Экспоненциальная фаза характеризуется постоянством максимальной удельной скорости роста, которая определяется внешними световыми условиями и внутренней организацией "узкого места" переноса энергии в клетке. Данная фаза описывается экспоненциальной функцией, аппроксимация экспериментальных данных которой представлена на рисунке 1а. Уравнение роста плотности культуры *S. platensis* для экспоненциальной фазы можно записать в виде:

$$B = 0,051 \cdot e^{(0,64(t-0,97))},$$

где максимальная удельная скорость роста $\mu_m = 0,64 \text{ сут}^{-1}$.

Линейная фаза роста характеризуется постоянством максимальной продуктивности культуры P_m , которая в свою очередь определяется величиной светового потока на ключевой фермент [5]. Аппроксимация линейной фазы роста позволила определить величину P_m , которая составила $0,27 \text{ г СВ} \cdot \text{л}^{-1} \cdot \text{сут}^{-1}$:

$$B = 0,36 + 0,27 \cdot (t - 3,96).$$

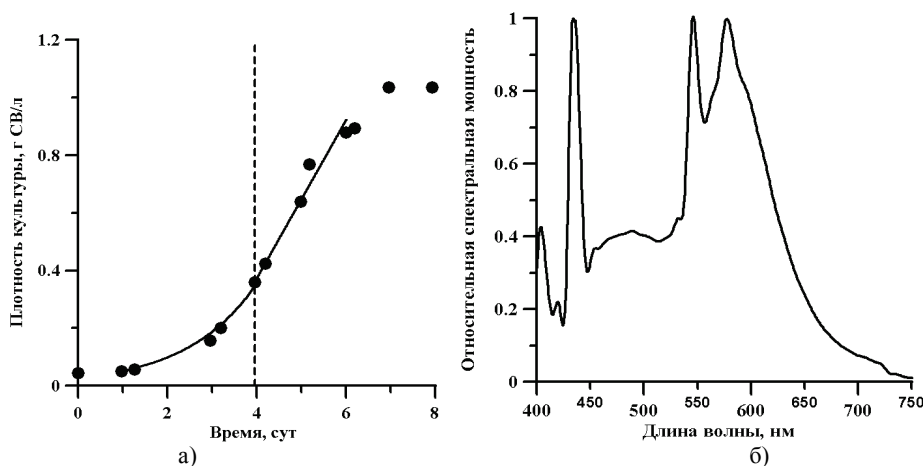


Рисунок 1. Накопительная кривая роста культуры *S. platensis* (а) при её выращивании на люминесцентных лампах TDM Electric 18 Вт. Линия – аппроксимация экспоненциальной и линейной фаз роста. Значения коэффициентов в тексте. (б) – спектр излучения люминесцентных ламп TDM Electric 18 Вт

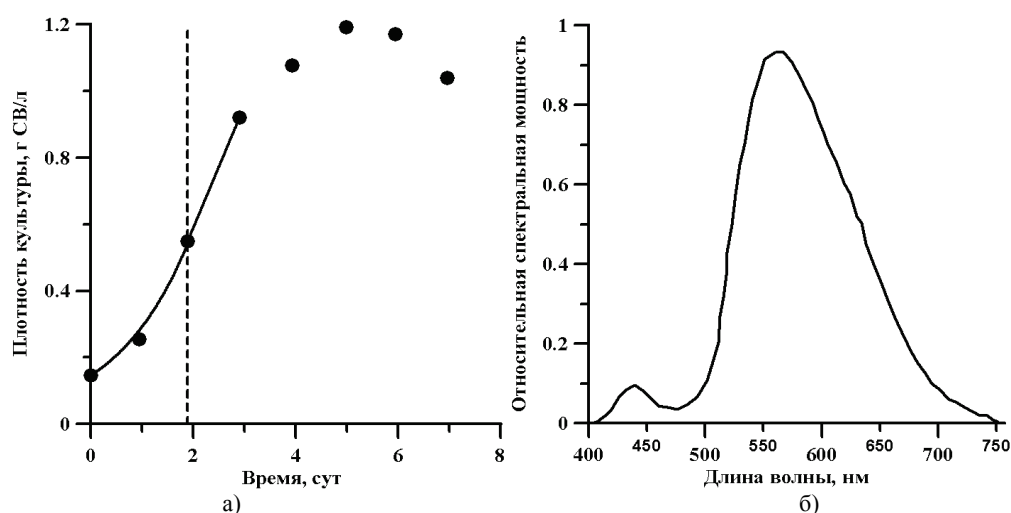


Рисунок 2. Накопительная кривая роста культуры *S. platensis* (а) при её выращивании на мощном светодиоде теплого света. Линия – аппроксимация экспоненциальной и линейной фаз роста. Значения коэффициентов в тексте. (б) – спектр излучения мощного светодиода теплого света

Аналогичные расчёты были проведены для всех опытных вариантов (рис. 2а, 3а, 4а), значения максимальной удельной скорости роста и максимальной продуктивности, а также максимальной плотности культуры в стационарной фазе внесены в таблицу 1.

Анализируя значения кинетических коэффициентов роста, представленных в таблице 1, можно сделать вывод, что максимальная продуктивность культуры *S. platensis* практически не зависит от спектра светодиодного освещения, однако для люминесцентных ламп продуктивность ниже почти на 30 %.

Величина максимальной плотности спирулины в нашем эксперименте напрямую зависела от спектра падающего на рабочую поверхность фотобиореактора света. Известно, что спектральный состав света определяет пигментный и биохимический состав клеток микроводорослей [1], следовательно, для достижения максимальной плотности культуры необходимо в качестве источника световой энергии использовать мощный светодиод холодного света, спектр излучения которого представлен на рисунке 3б.

Основной энергетической характеристикой роста культуры микроводорослей является эффективность преобразования световой энергии в энергию химических связей внутри клетки или КПД фотобиосинтеза. По определению, КПД фотобиосинтеза есть отношение двух величин: запасённой (E_x) и поглощённой световой энергии (E_n) [6]:

$$\eta = \frac{E_x}{E_n} \cdot 100\% .$$

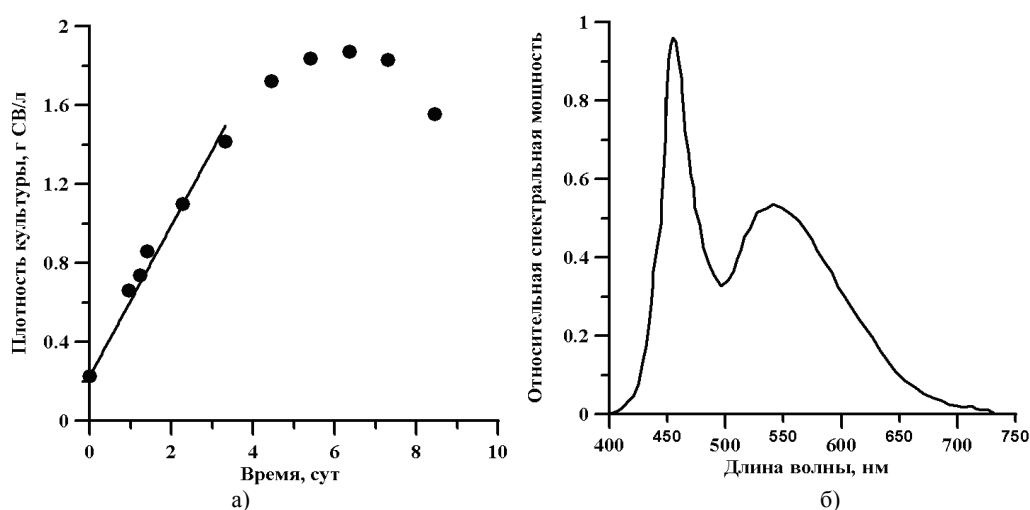


Рисунок 3. Накопительная кривая роста культуры *S. platensis* (а) при её выращивании на мощном светодиоде холодного света. Линия – аппроксимация экспоненциальной и линейной фаз роста. Значения коэффициентов в тексте. (б) – спектр излучения мощного светодиода холодного света

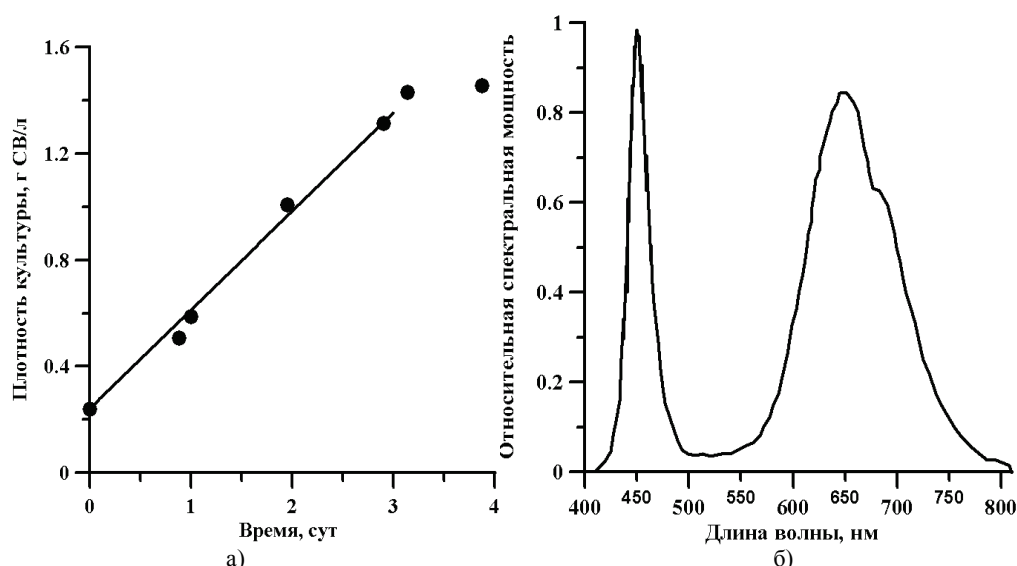


Рисунок 4. Накопительная кривая роста культуры *S. platensis* (а) при её выращивании на мощном фитосветодиоде. Линия – аппроксимация линейной фазы роста. Значения коэффициентов в тексте. (б) – спектр излучения мощного фитосветодиода

Поглощённая энергия зависит от мощности падающей на рабочую поверхность фотобиореактора энергии (E_0), площади (S), времени (t) и коэффициента поглощения энергии клетками микроводорослей (α):

$$E_n = E_0 \cdot S \cdot t \cdot \alpha.$$

Очевидно, что E_0 определяется спектральной характеристикой источника излучения и для разных вариантов нашего эксперимента будет отличаться. Величина α определяется спектром поглощения непосредственно культуры, однако если рассмотреть линейный участок роста, то для таких высоких оптических плотностей коэффициент поглощения энергии близок к единице: $\alpha \approx 1$.

Величина E_x определяется произведением прироста биомассы и её калорийностью R , т.е.

$$E_x = R \cdot P \cdot V,$$

где P – продуктивность или абсолютная скорость роста, г СВ/(л·сут); $V = 1$ л – рабочий объём культуры.

Окончательно выражение для определения КПД фотобиосинтеза культуры *S. platensis* можно представить в виде:

$$\eta = \frac{R \cdot P}{E_0 \cdot S \cdot t}.$$

Для определения количества поглощенной энергии переведем фотометрические единицы освещённости в единицы энергетического количества. Для этого используем соотношение [6]:

$$E_0 = 1,464 \cdot 10^{-3} \cdot N \cdot E_v,$$

где E_0 – облучённость, Вт/м²; E_v – освещённость поверхности, лк; N – отношение величин полной и определяемой люксметром световой энергии.

Таблица 1. Значения максимальной удельной скорости роста, максимальной продуктивности и максимальной плотности культуры *S. platensis* для различных источников освещения

Тип источника освещения	Максимальная удельная скорость роста, сут ⁻¹	Максимальная продуктивность, г СВ/(л·сут)	Максимальная плотность культуры, г СВ/л
Люминесцентные лампы	0,64	0,27	1,04
Теплый светодиод	0,69	0,37	1,19
Холодный светодиод	–	0,38	1,87
Фитосветодиод	–	0,37	1,46

Таблица 2. Значения отношения величин полной и определяемой люксметром световой энергии, облучённость, мощность энергии ФАР, приходящееся на рабочую поверхность фотобиореактора и КПД фотобиосинтеза культуры *S. platensis* для различных источников освещения

Тип источника освещения	N	E, Вт/м ²	E ₀ , Вт	КПД, %
Люминесцентные лампы	2.03	29,65	1,78	3,67
Теплый светодиод	1.59	23,23	1,39	6,47
Холодный светодиод	2.16	31,68	1,9	4,86
Фитосветодиод	6.12	89,57	5,37	1,67

Средняя калорийность 1 г биомассы *S. platensis*, как и многих других видов микроводорослей, составляет около 5 ккал или 20,86 кДж [6]. Отметим, что калорийность биомассы определяется её биохимическим составом (соотношением белков, жиров и углеводов), который может варьировать в широких пределах и определяется условиями культивирования. При дальнейших расчётах будем использовать указанное среднее значение калорийности.

Таким образом, мы можем рассчитать величину КПД фотобиосинтеза для различных источников освещения (табл. 2).

Полученные результаты свидетельствуют о том, что КПД фотобиосинтеза оказался максимален для мощного светодиода теплого света. Анализируя его спектр (рис. 2б) можно сделать вывод, что большая часть энергии приходится в зелёную и желтую область ФАР, попадая на реакционные центры фотосистем только через пигменты светособирающего комплекса. В случае облучения культуры фитосветодиодом (рис. 4б), мы имеем дело с противоположным вариантом: практически вся энергия приходится на хлорофилл а, причём общее количество которой почти в 4 раза больше, чем у теплого светодиода. Это приводит к фотоокислению пигментов реакционных центров, и соответствующему снижению КПД. Полученные результаты следует рассматривать как оценочные, которые требуют дальнейшего уточнения путём учёта коэффициента поглощения энергии (α) культурой *S. platensis*.

ВЫВОДЫ

1. Величина максимальной продуктивности культуры *S. platensis* при её выращивании на различных 50 Вт светодиодах одинаковая и не зависит от их спектра излучения. Максимальное значение биомассы достигнуто при использовании мощного светодиода холодного света.

2. Эффективность преобразования энергии (КПД фотобиосинтеза) максимальна при культивировании *S. platensis* с использованием мощного светодиода теплого света.

Работа выполнена в рамках госзадания по НИР «Разработка научных основ решения гидробиологических и биотехнологических проблем интегрированного управления прибрежными зонами» № АААА-А18-118021350003-6 и частичной финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта №18-34-00672.

Список литературы / References:

1. Козел Н.В., Доманский В.П., Мананкина Е.Е., Адамчик К.О. [и др.] Влияние спектрального состава светодиодного излучения на структуру фотосинтетического аппарата *Spirulina platensis*. *Vesci Naцыянальнай акадэміі навук Беларусі*, 2015, № 2, с. 44-49. [Kozel N.V. Domansky V.P., Manankina E.E., Adamczyk K.O. [et al.] The effect of the spectral composition of the led emission on the structure of the *Spirulina platensis* photosynthetic apparatus. *Vesci Nacyyanal'naj akadehmii navuk Belarusi*, 2015, no. 2, pp. 44-49. (In Russ.)]
2. Huanyang W. Effect of different light qualities on growth, pigment content, chlorophyll fluorescence, and antioxidant enzyme activity in the red alga *Pyropia haitanensis* (Bangiales, Rhodophyta). *Biomed. Res. Int.*, 2016, DOI: 10.1155/2016/7383918.
3. Nwoba E.G. Effect of selected light spectra on the growth of *Chlorella* spp. (Chlorophyta). *Nig. J. Biotech.*, 2017, vol. 32, pp. 69-76, DOI: 10.4314/njb.v32i1.10.
4. Тренкеншу Р.П., Лелеков А.С., Боровков А.Б., Новикова Т.М. Унифицированная установка для лабораторных исследований микроводорослей. *Вопросы современной альгологии*, 2017, № 1 (13), URL: <http://algology.ru/1097>. [Trenkenshu R.P., Lelekov A.S., Borovkov A.B., Novikova T.M. Unified setup for laboratory studies of microalgae. *Voprosy sovremennoj al'gologii*, 2017, no. 1 (13), URL: <http://algology.ru/1097>. (In Russ.)]
5. Тренкеншу Р.П., Лелеков А.С., Новикова Т.М. Линейный рост морских микроводорослей в культуре. *Морской биологический журнал*, 2018, т. 3, № 1, с. 53-60, DOI: 10.21072/mbj.2018.03.1.06. [Trenkenshu R.P., Lelekov A.S., Novikova T.M. Linear growth of marine microalgae in culture. *Morskoy biologicheskij zhurnal*, 2018, vol. 3, no. 1, pp. 53-60, DOI: 10.21072/mbj.2018.03.1.06. (In Russ.)]
6. Геворгиз Р.Г., Шматок М.Г., Лелеков А.С. Расчёт КПД фотобиосинтеза у низших фототрофов. 1. Непрерывная культура. *Экология моря*, 2005, вып. 70, с. 31-36. URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=25457247>. [Gevorgiz R.G., Shmatok M.G., Lelekov A.S. Calculation of photobiosynthesis efficiency in lower phototrophs. 1. Continuous culture. *Ekologiya morya*, 2005, vol. 70, pp. 31-36, URL: <https://elibrary.ru/item.asp?id=25457247>. (In Russ.)]

THE PRODUCTIVITY AND EFFICIENCY OF PHOTOBIONTS SPIRULINA (ARTHROSPIRA) PLATENSIS UNDER DIFFERENT SPECTRAL COMPOSITION OF THE LED EMISSIONGavrilov P.E.¹, Kostylev A.A.¹, Lelekov A.S.², Malakhov A.S.³¹ Sevastopol State University*Universitetskaya St., 33, Sevastopol, 299053, Russia; e-mail: havrilovpyotr@gmail.com*² Institute of Marine Biological Research A.O. Kovalevsky*Nachimov av., 2, Sevastopol, 299011, Russia; e-mail: a.lelekov@yandex.ru*³ National research Tomsk Polytechnic University*Lenin av., 30, Tomsk, 634050, Russia; e-mail: mac89@mail.ru*

Abstract. The study of the *Spirulina platensis* batch culture growth in the different spectral composition of the led radiation in the plane-parallel photobioreactors was carried out. The powerful (50 W) warm, cold light, and phyto LEDs were used in the experimental variants. The grid of 10 fluorescent lamps TDM Electric 18 W were used in the control variant as the light source. It is shown that the maximum productivity of the *S. platensis* does not depend on the led emission spectrum and was 0.37 g SW·l⁻¹·d⁻¹. In the control variant the maximum productivity was 30 % lower. The maximum value of the *S. platensis* biomass is achieved by using a powerful led of cold light. In the linear growth phase, the calculated efficiency of the light energy conversion (the efficiency photobiosynthesis): for the phyto led this value was minimal and equivalent to 1.67 %; for the warm led the value was maximum and equivalent to 6.47 %.

Key words: photoautotrophs, batch culture, maximum productivity, photobiosynthesis, powerful led.