СЕЗОННАЯ ДИНАМИКА ПРЕДЕЛЬНОЙ ПРОДУКТИВНОСТИ В ГОРИЗОНТАЛЬНОМ ФОТОБИОРЕАКТОРЕ Чекушкин А.А., Лелеков А.С., Геворгиз Р.Г.

ФГБУН ФИЦ «Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН» пр. Нахимова, 2, г. Севастополь, 299011, Россия; e-mail: chekushkin.78@mail.ru Поступила в редакцию: 10.07.2020

Аннотация. В работе приведены данные о суточном и сезонном изменении притока солнечной радиации на рабочую поверхность фотобиореактора. Полученные результаты близки к справочным данным, указанным в литературе для г. Севастополя географическая широта 44,5° за 1966 г. и 1988 г. Измерения проводились с сентября 2019 г. по июнь 2020 г. включительно на базе отдела биотехнологий и фиторесурсов Федеральный исследовательский центр «Институт биологии южных морей имени А. О. Ковалевского» г. Севастополя. В качестве измерительного устройства использовали ранее разработанный автоматический датчик освещённости на базе микроконтроллера Arduino. Основным элементом датчика являлся CdS фоторезистор GL125. Показано, что максимум поглощения фоторезистора приходится на 593 нм, чувствительность в 1,2 раза выше, чем у люксметра. Для пересчёта единиц освещённости в облучённость использовали солнечные спектры при различной высоте над горизонтом для географической широты г. Севастополь. Усреднённый коэффициент перевода клк в Вт/м² для используемого фоторезистора составил 4,26. Определены количества энергии ФАР в синем, зелёном и красном диапазонах солнечного спектра. Показано, что для наших условий зимой количество красных лучей в солнечном свете в 1,22 раза выше, при этом в синей части наблюдается убыль световой энергии в 1,5 раза. При оценке предельной продуктивности культуры микроводорослей использовали средние значения калорийности 21 кДж/г и КПД фотобиосинтеза 5,58 %. За период наблюдений минимальная величина урожая отмечена за декабря – 133 г CB/м², а максимальная за июня – 824 г CB/м². Полученные результаты можно рассматривать как некие предельные значения, которые могут использоваться при проектировании промышленных производств микроводорослей на территории южных регионов России.

Ключевые слова: солнечный спектр, моделирование, ФАР, предельная продуктивность, КПД фотобиосинтеза.

Исследования закономерностей, связывающих эффективность и скорость фотобиосинтеза микроводорослей являются одной из актуальных задач в современной физиологии фотоавтотрофных организмов. В промышленных масштабах культуры низших фотоавтотрофов (микроводорослей), как правило, выращивают в открытых фотобиореакторах в условиях естественного освещения, что обуславливает суточную ритмику роста и биосинтеза. Например, при выращивании *A. platensis* в естественном свето-темновом цикле было обнаружено, что за ночь содержание углеводов в органической массе уменьшении доли липидов [1]. В течение дня пропорции биохимических компонентов клеток возвращались к исходным величинам. Аналогичные данные были получены и для планктонных водорослей, причем авторы наблюдали прямую корреляцию между уменьшением углеводов и скоростью дыхания [2].

На сегодняшний день для регистрации уровня обеспеченности культуры микроводорослей световой энергий используются различные приборы: пиранометры, квантометры, люксметры, поэтому в научных публикациях значение фотосинтетически активной радиации (ФАР) приводится в различных единицах измерения. В отечественной литературе данная величина преимущественно указывается в люксах или ваттах на квадратный метр, а в зарубежной – в микроэйнштейнах на единицу площади в единицу времени. Для сравнения данных о росте микроводорослей удобно использовать коэффициенты перехода между различными единицами измерения количества световой энергии. Эти коэффициенты можно рассчитать исходя из спектра источника излучения [3]. В условиях естественного освещения спектральный состав солнечной энергии, положение максимума и граница излучения в УФ диапазоне определяется высотой солнцестояния. При уменьшении высоты солнцестояния солнечный спектр обогащается красными лучами, максимум излучения смещается в длинноволновую область [4]. Следовательно, для различных высот солнцестояния коэффициенты перевода фотометрических единиц в энергетические изменяются.

Таким образом, первым шагом при моделировании влияния периодически изменяющихся световых условий на продуктивность культуры и продукцию основных биохимических составляющих является разработка автоматической системы контроля основных параметров внешней среды. Обычно, автоматические средства контроля световых условий являются дорогостоящим оборудованием, либо выполнены под задачи конкретного исследования или производства. Ранее нами предложен автоматический датчик измерения освещённости и температуры на базе платформы Arduino Nano [5]. Данные о притоке энергии ФАР, полученные с такого датчика, необходимы при исследовании суточной и сезонной динамики продуктивности микроводорослей в условиях естественного освещения. В общем случае, продуктивность микроводорослей определяется множеством факторов, основным из которых являются световые условия. Поэтому при сравнительных оценках уровня обеспеченности световой энергией удобно использовать понятие предельной продуктивности, которое подразумевает максимальную скорость роста микроводорослей в данных условиях [6]. При этом состав питательной среды, температурные условия, pH культуры не являются лимитирующими факторами и способствуют максимальному приросту.

Цель работы – определение сезонного изменения величины облучённости фотобиореактора и предельной продуктивности культуры микроводорослей в условиях естественного освещения в районе г. Севастополь.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Работа выполнялась на базе отдела биотехнологий и фиторесурсов Федерального исследовательского центра «Институт биологии южных морей имени А.О. Ковалевского РАН». Культивирование микроводорослей в условиях естественного освещения осуществлялось в альгобиотехнологическом модуле, расположенном в г. Севастополе на территории РБК ФИЦ ИнБЮМ. Модуль выполнен на базе многоцелевой оцинкованной конструкции «Урожай-Абсолют», покрытой сотовым поликарбонатом 4 мм. Размеры модуля 4 м на 3 м, высота в верхней точке арки 2,5 м. Модуль оборудован двумя дверными проёмами с обоих торцов, в верхней части которых находятся форточки. Трубные арки и стингера изготовлены из оцинкованной 1 м, по обеим сторонам которого находятся прямоугольные бассейны, глубиной 10 см. Модуль электрифицирован 220 В, подведёна морская и пресная вода. Каркас каждого бассейна изготовлен из необрезной доски шириной 150 мм, бассейны выстелены полиэтиленовой плёнкой. Перемешивание культуры микроводорослей осуществлялось аквариумной помпой Вагbus pump 001 (400 л/ч). Модуль оснащён баллоном с углекислотой, которая необходима для нормального роста и развития водорослей.

Модуль оборудован автоматической системой контроля параметров роста микроводорослей и внешней среды. Автоматический датчик измерения освещённости располагается на внешней стороне модуля. Датчик разработан на базе платформы Arduino Nano [5]. Платформа может получать питание через USB-подключение или от регулируемого 6-20 В внешнего источника. В нашей схеме для стабильной работы Arduino Nano использовался импульсный понижающий регулируемый стабилизатор постоянного напряжения DC-DC LM2596. Запись данных, полученных с аналоговых входов датчика, осуществлялась в текстовый файл на 2 Gb SD-карту памяти, которая подключалась с помощью модуля MicroSD Card к контактам платы: CS к D4, SCK к D13, MOSI к D11, MISO к D12. Основным элементом датчика являлся CdS-фоторезистор GL12516. Отметим, что максимум поглощения световой энергии приходился в зелёную область спектра, что имеет значение при записи освещённости в области ФАР. Для получения спектральной характеристики фоторезистора использовали фотокалориметр Unico-2100. Калибровка датчика выполнялась по люксметру Ю-116.

Исходными данными для расчётов количества энергии ФАР являлись показания датчика внешней освещённости и солнечный спектр при различной высоте солнцестояния [4, 7]. Расчёты выполнялись с использованием электронной таблицы Excel, математического графического пакета SciDavis.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

Датчик регистрировал значения внешней освещённости с интервалом 10 мин с 16 сентября 2019 г по 30 июня 2020 г. На рисунке 1 представлены экспериментальные данные.

Для определения количества солнечной энергии ФАР, приходящейся на поверхность бассейна с микроводорослями, необходимо перевести величины освещённости в энергетические единицы. Для этого используем соотношение [3]:

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

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

Рассчитаем значение отношения величин полной и определяемой датчиком световой энергии N с учётом географической широты г. Севастополя и высоты солнцестояния. По литературным данным [7], для г. Севастополя максимальная высота солнца над горизонтом варьирует от 22° до 70°. На рисунке 3 приведены солнечные спектры [4] при его различной высоте над горизонтом, а также спектральная характеристика фоторезистора GL12516. Отметим, что максимум поглощения на 593 нм отличался от заявленного производителем в 560 нм [8]. Чувствительность используемого фоторезистора, численно равная площади под нормированной кривой спектральной характеристики, в 1,2 раза выше, чем у люксметра [3].



Рисунок 1. Изменение внешней освещённости в альгобиотехнологическом модуле РБК ФИЦ ИнБЮМ г. Севастополя. По оси абсцисс отсчёт времени с 16 сентября. 1 – сентябрь ... 10 – июнь 2020 г.

Рассчитаем отношение величин полной и определяемой датчиком световой энергии. Для этого вычислим долю энергии δ_i , которая приходится на каждую длину волны: просуммируем все величины относительной мощности излучения $\Phi(\lambda)$ (см. рис. 2А), далее для каждой длины волны разделим относительную мощность на полученную сумму. Умножая δ_i на соответствующее относительной чувствительности фоторезистора $V(\lambda)$ (см. рис. 2Б), определим количество световой энергии $\Phi(\lambda)$ $V(\lambda)$. Пример расчёта для высоты солнцестояния 65 градусов представлен в таблице 1. Отметим, что спектры были предварительно интерполированы кубическим сплайном с шагом 1 нм.

С учётом указанных спектров (рис. 2А, кривая 1), для высоты солнцестояния 65° величина N составляет:

$$N = \frac{\sum_{380}^{779} \Phi(\lambda)}{\sum_{380}^{779} \Phi(\lambda) \cdot V(\lambda)} = \frac{22436}{7717} = 2,91.$$

Для остальных высот солнца расчёты величины N аналогичны. Коэффициент перехода от единиц освещённости (клк) к облучённости (Вт/м²) $K_{ЛВ}$ равен произведению N на 1,464·10⁻³ Вт/лм. Отметим, что величины коэффициентов перехода в общем случае зависят от высоты солнцестояния. Однако для г. Севастополь минимальная высота не ниже чем 22°, поэтому в дальнейших расчётах будем использовать значение:

$$K_{\rm JIB} = 1,464 \cdot 10^{-3} \cdot 2,91 = 4,26.$$

λ	$\Phi(\lambda)$	$V(\lambda)$	$\Phi(\lambda) V(\lambda)$
380	22,54	0,025	0,580232
381	23,04	0,026	0,610568
382	23,37	0,027	0,63664
545	63,72	0,33	21,01
546	63,68	0,33	21,17
547	63,65	0,34	21,34
778	45,45	0,06	2,92
779	45,36	0,06	2,89
Σ	22436		7717

Таблица 1. Пример расчёта суммарной мощности источника излучения и суммарной мощности в области ФАР для 65 градусов

А Б Рисунок 2. А – распределение энергии в солнечном спектре на поверхности Земли в области ФАР при разной высоте солнцестояния [4]: 1 – 65°; 2 – 30°; 3 – 19°; 4 – 11°. Б – спектральная характеристика фоторезистора GL12516. Пунктиром показана относительная видность [3]

Во многих литературных источниках световая энергия представлена в микромолях квантов (в микроэнштейнах) на единицу площади в единицу времени. Для расчёта числа молей квантов необходимо определить долю световой энергии, приходящуюся на каждую длину волны в области ФАР δ_i . Далее рассчитать количество энергии для каждой длины волны, с учётом энергии одного кванта определить число квантов на каждой длине волны. Окончательно, найти суммарное количество кантов и полученное значение разделить на число Авогадро [3].

Для культур микроводорослей известно [9], что не только количество энергии ФАР, но и спектр используемого источника света во многом определяет пигментный и биохимический состав клеток. В спектре поглощения культуры микроводорослей можно выделить три области: синяя (380-500 нм) и красная (600-780 нм) где клетки поглощают большую часть падающего света, и зелёная (500-600 нм), где большая часть света пропускается. Для расчёта количества энергии в синем, зелёном и красном диапазонах солнечного спектра в области ФАР необходимо найти сумму долей энергии ($\Sigma \delta_i$) для каждого диапазона:

$$E_{\rm CHH} = \sum_{380}^{500} \delta_i \cdot E_{\rm s} , \quad E_{\rm 3em} = \sum_{500}^{600} \delta_i \cdot E_{\rm s} , \quad E_{\rm kp} = \sum_{600}^{780} \delta_i \cdot E_{\rm s} ,$$

где *E*_{син,зел,крас.} – энергия в синем, зелёном и красном диапазоне солнечного спектра в области ФАР, *E*_s – суммарное количество энергии в области ФАР, приходящее на поверхность бассейна.

Результаты расчётов, представленные на рис. 3, показывают, что зимой количество красных лучей в солнечном свете в 1,22 раза выше, при этом в синей части наблюдается убыль световой энергии в 1,5 раза. Так как микроводоросли в промышленных масштабах обычно выращивают при условиях естественного освещения, полученные данные важны для оценки качества получаемой биомассы. Например, для цианобактерии *Arthrospira platensis* показано, что избыток красного света приводит к перераспределению синтеза компонентов фотосистемы ФС в пользу фотосинтетической единицы 2 ФС2, в то время как добавление в спектр освещения желтого света вызывает повышение синтеза в клетках фикобилинового пигмента фикоцианина [10].

Для определения предельной продуктивности P₀ воспользуемся выражением [11]:

$$P_0 = \eta \frac{E_s}{R}$$

где *η* – КПД фотобиосинтеза, *R* – калорийность биомассы микроводорослей.

Известно, что средняя калорийность биомассы микроводорослей составляет около 21 кДж [11]. Согласно литературным данным КПД фотобиосинтеза определяется количеством поглощённой световой энергии и имеет сложный характер зависимости от поверхностной облучённости культуры [11]. Для зелёных микроводорослей зависимость КПД от облучённости представлена на рисунке 4.





Рисунок 3. Доля энергии в синем, зелёном и красном диапазоне солнечного спектра на поверхности Земли в области ФАР в (A) декабре (17 : 28 : 55 % соответственно) и (Б) мае (26 : 29 : 45 % соответственно)



Рисунок 4. Зависимость КПД фотобиосинтеза от облучённости для Tetraselmis viridis [11]

Среднее значение КПД для всего диапазона облучённости от 5 до 491 Вт/м² составит:

$$\eta = \frac{\int_{-5}^{491} \eta(E)}{491 - 5} \cdot 100\% \cong 5,58\%$$

Окончательно, значения суммарного количества энергии в области Φ AP, приходящее на поверхность бассейна E_s и предельной продуктивности P_0 , представлены в таблице 3.

Таблица 3. Изменение суммарной энергии ФАР и предельной продуктивности культуры микроводорослей в 2019-2020 гг. *Е*_s, – оригинальные данные облучённости.

	Октябрь	Ноябрь	Декабрь	Январь	Февраль	Март	Апрель	Май	Июнь
<i>E</i> _s , МДж/м ²	152	87	50	61	113	210	289	302	310
По данным [7], МДж/м ²	161	86	56	65	90	167	243	308	337
По данным [12],МДж/м ²	160	82	53	63	89	171	240	300	354
средняя <i>P</i> ₀ , г CB/м ² в сут	404	231	133	162	300	558	768	802	824

Полученные значения притока энергии ФАР близки к справочным данным за 1966 г. [7] и 1988 г. [12], указанным в литературе для нашей географической широты. Таким образом, полученные данные о суточных и сезонных изменениях притока ФАР могут быть использованы в модельных системах прогноза роста и биосинтеза культур микроводорослей. Величина урожая за июнь 2020 г. составляет 824 г CB/м², при этом предельная продуктивность равна 27 г CB/(м²·сут), что близко к экспериментально определённой для культуры *А. platensis* по данным [13].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В работе исследована сезонная динамика облучённости промышленного фотобиреактора (бассейна) с культурой микроводорослей и выполнена теоретическая оценка предельной продуктивности при их выращивании в условиях естественного освещения района г. Севастополь. Данные облучённости получены с помощью ранее предложенного датчика на базе Arduino [5]. Стандартные фотометрические датчики для Arduino не подходят для наших условий, потому что регистрируемая максимальная освещённость в г. Севастополе гораздо выше их предельных параметров. При пересчёте величины освещённости в облучённость необходимо учитывать спектральную чувствительность используемого фоторезистора, которая может отличаться от заявленной производителем [8] и чувствительности люксметра. Кроме того, коэффициент пересчёта лк в Bт/м² зависит от солнечного спектра, который в свою очередь меняется от высоты солнца над горизонтом.

Рассчитанные значения предельной продуктивности в реальных условиях будут заведомо ниже, т.к. часть энергии ФАР будет поглощаться и отражаться от поверхности бассейна и кровельного материала альгобиотехнологического модуля. Кроме того, на скорость роста микроводорослей оказывают значительное влияние физико-химические условия среды, фотоингибирование в полуденное время и пр. Тем не менее, полученные результаты можно рассматривать как некий предел при организации промышленных производств на территории южных регионов России.

Работа выполнена в рамках госзадания ФИЦ «Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН», № гос. регистрации АААА-А18-118021350003-6 и в рамках научного проекта № 18-44-920009.

Список литературы / References:

1. Torzillo G., Sacchi A., Materassi R., Richmond A. Effect of temperature on yield and night biomass loss in *Spirulina platensis* grown outdoors in tubular photobioreactors. *J. Appl. Phycol*, 1991, vol. 3, pp. 103-109.

2. Markager S., Sand-Jensen K. Patterns of night-time respiration in a dense phytoplankton community under a natural light regime. *J. Ecol.* 1989, vol. 77, pp. 49-61.

3. Геворгиз Р.Г., Малахов А.С. Пересчёт величины освещённости фотобиореактора в величину облучённости. Севастополь: ООО «Колорит», 2018, 60 с. [Gevorgiz R. G., Malakhov A. S. Recalculation of the illumination value of the photobioreactor into the irradiation value. Sevastopol: Kolorit LLC, 2018, 60 р. (In Russ.)]

4. Клешнин А.Ф. *Растение и свет: теория и практика светокультуры растений*. М.: Изд-во АН СССР, 1954, 460 с. [Kleshnin A. F. *Plant and light: theory and practice of plant light culture*. М.: Izd-vo AN SSSR, 1954, 460 р. (In Russ.)]

5. Чекушкин А.А., Лелеков А.С., Тренкеншу Р.П. Моделирование суточных колебаний освещённости в районе г. Севастополя. Актуальные вопросы биологической химии и физики, 2018, т. 3, № 3, с. 547-552. [Chekushkin A.A. Lelekov A.S. Trenkenshu R.P. Modeling of daily fluctuations of illumination in the area of Sevastopol. Actual problems of biological chemistry and physics, 2018, vol. 3, no. 8, pp. 547-552. [In Russ.]]

6. Геворгиз Р.Г., Щепачев С.Г., Король О.Н. Предельная оценка продуктивности микроводорослей в условиях естественного и искусственного освещения. Экология моря, 2010, спец. вып. 80, с. 29-33. [Gevorgiz R.G., Shchepachev S.G., Korol O.N. Limit assessment of microalgae productivity in conditions of natural and artificial illumination. *Ekologiya morya*, 2010, spec. release vol. 80, pp. 29-33. [In Russ.)]

7. Справочник по климату СССР. Вып. 10. Украинская ССР. Часть 1. Солнечная радиация, радиационный баланс и солнечное сияние. Л.: Гидрометиздат, 1966, 124 с. [Handbook on climate USSR. Issue 10. Ukrainian SSR. Part 1. Solar radiation, radiation balance and solar radiance. L.: Gidrometizdat, 1966, 124 р. (In Russ.)]

8. CdS Photoresistor Manual. GL125 Series Photoresistor. URL: https://opencircuit.nl/ProductInfo/1000662/ GL12528-Datasheet.pdf.

9. Ефимова Т.В. Влияние спектрального состава света на содержание пигментов в клетках микроводорослей. *Морской экологический журнал*, 2011, отд. вып. № 2, с. 22-28. [Efimova T.V. Influence of the spectral composition of light on the content of pigments in microalgae cells. *Marine environmental journal*, 2011, no. 2, pp. 22-28. (In Russ.)]

10. Козел Н.В., Доманский В.П., Мананкина Е.Е., Адамчик К.О., Дремук И.А., Савина С.М. Влияние спектрального состава светодиодного излучения на структуру фотосинтетического аппарата *Spirulina platensis*. *Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі*, 2015, \mathbb{N} 2, с. 44-49. [Kozel N.P., Domanskij V.P., Manankina E.E., Adamchik K.O., Dremuk I.A., Savina S.M. Influence of the spectral composition of led radiation on the structure of photosynthetic apparatus *Spirulina platensis*. *Vesc. Nacyyanalnaj akadehm navuk Belarus*, 2015, no. 2, pp. 44-49. [In Russ.]] 11. Белянин В.Н., Сидько Ф.Я., Тренкеншу А.П. Энергетика фотосинтезирующей культуры микроводорослей. Новосибирск: Наука, 1980, 136 с. [Belyanin V.N., Sid'ko F.Ya., Trenkenshu A.P. Energy photosynthetic culture of microalgae. Novosibirsk: Nauka, 1980, 136 р. (In Russ.)]

12. Научно-прикладной справочник по климату СССР. Вып. 10. Украинская ССР. Серия 3. Части 1-6. Многолетние данные. Л.: Гидрометиздат, 1988, 224 с. [Scientific and applied reference book on the climate of the USSR. Issue 10. Ukrainian SSR. Series 3. Parts 1-6. Multiyear data. L.: Gidrometizdat, 1988, 224 p. (In Russ.)]

13. Benavides A.M.S., Ranglová K., Malapascua J.R., Masojidek J., Torzillo G. Diurnal changes of photosynthesis and growth of *Arthrospira platensis* cultured in a thin-layer cascade and an open pond. *Algal Research*, 2017, vol. 28, pp. 48-56.

SEASONAL DYNAMICS OF LIMIT PRODUCTIVITY IN A HORIZONTAL PHOTOBIOREACTOR Chekushkin A.A., Lelekov A.S., Gevorgiz R.G.

A.O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas of RAS Nachimov av., 2, Sevastopol, 299011, Russia, e-mail: chekushkin.78@mail.ru

Abstract. This paper presents data on the daily and seasonal changes in the inflow of solar radiation to the working surface of the photobioreactor. The results obtained correspond approximately to the reference data indicated in the literature for our geographical latitude for 1966 and 1988. Measurements were carried out from September 2019 to June 2020 inclusive on the basis of the Department of biotechnologies and phytoresources of the A.O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas of RAS, Sevastopol. A previously developed automatic light sensor based on an Arduino microcontroller was used as a measuring device. The main element of the sensor was a CdS photoresistor GL125. It is shown that the maximum absorption of the photoresistor is 593 nm, the sensitivity is 1.2 times higher than that of the luxmeter. To convert illumination units into irradiance, we used solar spectra at different heights above the horizon for the geographical latitude of Sevastopol. The average coefficient of conversion of klk in W/m² for the used photoresistor was 4.26. The amounts of energy photometric quantity of irradiance in the blue, green and red ranges of the solar spectrum were determined. For our conditions it is shown, that in winter the number of red rays in sunlight is 1.22 times higher, while in the blue part there is a decrease in light energy by 1.5 times. The average calorific value of 21 kJ/g and the photobiosynthesis efficiency of 5.58% were used to evaluate the limit productivity of microalgae culture. During the observation period, the minimum value of limit productivity was noted for December -133 g/m^2 , and the maximum for June -824 g/m^2 . The results obtained can be considered as a certain limit in the organization of industrial production of microalgae in the southern regions of Russia.

Key words: the spectrum of the sun, modeling, PAR, limit productivity, efficiency of photobiosynthesis.