

РАЗРАБОТКА АВТОНОМНОЙ ЭКСПЕДИЦИОННОЙ УСТАНОВКИ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ В ЕСТЕСТВЕННЫХ УСЛОВИЯХ

Гулин А.С., Тренкеншу Р.П.

ФИЦ «Институт биологии южных морей имени А.О. Ковалевского РАН»

ул. Нахимова, 2, г. Севастополь, 299011, РФ; e-mail: gulins_gent@mail.ru

Поступила в редакцию: 07.07.2021

Аннотация. В работе сформулированы основные проблемы, связанные с исследованием микроводорослей в экспедиционных условиях. Проведено обоснование необходимости разработки автономной экспедиционной установки, предназначенной для оценки первичной продукции водоемов, непосредственно у водоема, в условиях отсутствия лабораторных условий. После рассмотрения задач, которые предстоит решить с помощью экспедиционной установки, составлен перечень необходимых систем с их подробным описанием.

Ключевые слова: экспедиционная установка для исследования роста микроводорослей, культиватор, хемостат, измерение оптической плотности.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время микроводоросли все чаще находят применение в научно-исследовательских, медицинских и промышленных целях.

Их клетки богаты витаминами, белками, углеводами, микро и макроэлементами не только количественно, но и качественно. Известен опыт применения микроводоросли *S. platensis*, в пищевой промышленности, в качестве высокобелковых и витаминизированных пищевых добавок, а также как биостимулятора и регулятора роста

Широкий спектр применения микроводорослей в сельском хозяйстве. В качестве кормовых добавок в животноводстве и птицеводстве.

Микроводоросли могут быть промышленным сырьем для получения альгиновых кислот и альгинатов, сорбита, этилового и метилового спиртов, ацетона, органических кислот, эфиров, нитроцеллюлозы, меченых аминокислот, стеролов, инсектицидов, репеллентов [1].

Микроводоросли служат эффективным преобразователем световой энергии, являются источниками витаминов, растительного белка, в связи с этим представляют интерес в качестве объекта марикультуры [2-5].

Перечисленные факторы позволяют сделать вывод, что исследование и культивирование микроводорослей является востребованной и актуальной задачей.

Производство биомассы микроводорослей заключается в синтезе ими белков, углеводов, липидов, витаминов и других соединений из углекислого газа, соды, воды и минеральных солей, находящихся в питательной среде, с помощью энергии света. Микроводоросли имеют короткий цикл роста, производство не требует больших затрат: для их культивирования требуется только вода, солнечный свет, питательные вещества, не требуется плодородная почва и дорогостоящие удобрения, нет ограничений, связанных с сезонностью.

В связи с изложенными аспектами возникает вопрос о способах культивирования микроводорослей. Разработка систем культивирования микроводорослей является популярной задачей [6, 7]. Разработчики предлагают разные виды конструкций, от самых простых лабораторных культиваторов, заканчивая дорогостоящими автоматизированными промышленными образцами [8-10].

При изучении роста микроводорослей непосредственно в природном водоеме, мы сталкиваемся с тем, что водоросли растут и выедаются там же. В результате подсчет оказывается сильно затруднен.

При проведении исследований культура из водоема, как правило, перевозится из водоема в исследовательскую лабораторию, где помещается в культиватор. В результате получают косвенные данные, это связано с такими факторами, как несоответствие температуры и химического состава воды в лабораторном культиваторе параметрам водоема.

В экспедиционных условиях лабораторные условия как правило отсутствуют. Этот фактор фактически исключает проведение исследований микроводорослей непосредственно в полевых условиях (в водоеме).

Таким образом, разработка экспедиционной установки для исследования микроводорослей является востребованной задачей в связи с возможностью проводить оценку первичной продукции водоемов. Установка предоставит возможность проводить исследования вне лаборатории в естественных условиях, приближенных к ситуации в водоеме, а также получать новые знания о процессах роста и накопления биохимических компонентов клетками микроводорослей.

В данной работе предлагается проект экспедиционной установки, обеспечивающей рост культуры микроводорослей как в различных режимах при требуемых удельных скоростях потока.

При проведении экспедиционных работ применение установки позволит производить исследование культур микроводорослей в условиях максимально приближенных к естественным, поскольку и культура, и вода берутся непосредственно из водоема. Температура и химический состав воды и интенсивность освещения также соответствуют природным характеристикам.

К устройству экспедиционной установки предъявляется ряд требований исходя из факторов, ограничивающих рост культуры микроводорослей. Таких как: световые условия, поддержание температурного режима, газовое обеспечение и минеральные компоненты питательной среды [11, 12]. Все эти факторы оказывают влияние на форму накопительной кривой.

УСТРОЙСТВО УСТАНОВКИ

Для реализации требуемого функционала, в конструкцию установки необходимо включить несколько отдельных систем, таких как: культиватор, система газообеспечения, систем освещения, система поддержания температурного режима, система обеспечения режима культивирования, контрольно-измерительной системы, системы подачи питательной среды и система питания.

Перечень систем установки:

1. Ёмкость культиватора;
2. система освещения;
3. система газообеспечения;
4. система поддержания температурного режима;
5. система обеспечения режима культивирования;
6. контрольно-измерительная система;
7. система подачи питательной среды;
8. система питания.

Культиватор.

Представляет собой ёмкость, минимальный объем которой должен позволять обеспечивать условное невмешательство в процессы роста [13].

Для обеспечения достаточного количества биомассы и ежедневного отбора проб оптимальным является компромисс между толщиной освещаемого слоя и общим объемом фотобиореактора при его небольших размерах и весе.

Для поддержания постоянного уровня освещенности фронтальные стенки культиватора целесообразно изготовить из стекла.

Для экспедиционной установки наиболее оптимально использовать горизонтальную конструкцию культиватора. Горизонтальная конструкция по сравнению с вертикальной более устойчива и позволяет снизить затраты энергии на перемешивание культуры. Так же горизонтальная схема обеспечивает более эффективное использование естественного освещения, что в свою очередь снижает потребление системой освещения.

Но главным преимуществом такой конструкции является максимальное приближение условий роста к естественным. В дальнейшем горизонтальная конструкция позволит переносить данные на промышленные системы культивации микроводорослей (бассейны).

Система освещения.

Удельная освещенность клеток складывается из поверхностной освещенности, которая обусловлена мощностью световой матрицы, освещаемого ею слоя фотобиореактора и интенсивности перемешивания культуры.

Для реализации максимальной скорости роста культур микроводорослей необходимы мощные источники света, тонкий освещаемый слой при активном перемешивании суспензии клеток.

Но учитывая экспедиционное использование установки, необходимо добиться минимального энергопотребления. В связи с этим, в качестве источника света целесообразно использование светодиодной матрицы. Необходимо предусмотреть регулировку интенсивности светового излучения путем изменения яркости свечения светодиодной матрицы, как в ручном режиме, так и в автоматическом.

Средняя освещенность на поверхности фотобиореактора составляет 10 кЛк на расстоянии 5 см от источника света.

Система газообеспечения.

Служит для обеспечения равномерного перемешивания суспензии микроводорослей внутри ёмкости культиватора и распределения питательных веществ между клетками. Также эта система реализует подачу в культиватор углекислого газа и вынос кислорода, являющегося побочным продуктом фотосинтеза. Основным элементом системы является малогабаритный аквариумный компрессор. Также компрессор обеспечивает перемешивание суспензии для равномерного распределения клеток в культиваторе и, соответственно, равномерного освещения.

Для обеспечения максимальной продуктивности необходимо увеличить подачу углекислого газа в фотобиореактор до максимального предела, который составляет 5% от газо-воздушной смеси [14]. Применение аквариумного насоса, баллона с углекислым газом, смесителя с обратным клапаном, позволит обеспечить выполнение данного режима работы.

Для автоматизации работы системы газо-обеспечения необходимо предусмотреть датчик концентрации углекислого газа (CO₂) и датчик содержания кислорода.

Система поддержания температурного режима.

При работе в экспедиционных условиях в теплое время года культиватор будет подвергаться повышенному нагреву от солнечных лучей. Для поддержания температурного режима необходимо реализовать как систему охлаждения, так и систему для подогрева культиватора.

Систему охлаждения целесообразно выполнить в виде водяной рубашки на корпусе культиватора и обеспечить циркуляцию посредством насоса через нее воды из водоема. Изменение скорости потока воды через водяную рубашку позволит поддерживать температуру в фотореакторе на заданном уровне. Для повышения эффективности охлаждения в теплое время года целесообразно применить дополнительный вентилятор, охлаждающий водяную рубашку.

Для поддержания заданной температуры в холодное время года возможно использование современных аквариумных нагревателей с возможностью поддержания заданной температуры.

Система обеспечения режима культивирования.

Основными задачами системы является анализ в непрерывном режиме сигналов, поступающих от датчиков контрольно-измерительной системы с последующей записью их значений на карту памяти и обеспечение стабильной работы остальных систем установки.

Для реализации поставленных задач, в системе обеспечения режима культивирования целесообразно использовать микропроцессорную систему на базе платформы Arduino.

Основные преимущества платформы Arduino:

Низкая стоимость по сравнению с другими платформами;

кросс-платформенность – программное обеспечение Arduino работает под ОС Windows, Macintosh OSX и Linux. Большинство микроконтроллеров ограничивается ОС Windows;

простая и понятная среда программирования – среда Arduino IDE подходит как для начинающих пользователей, так и для опытных.

Контрольно-измерительная система.

Измерительная система предназначена для контроля над основными параметрами процесса и возможность простого управления ими. Включает в себя несколько датчиков с системами анализа и управления:

Измеритель оптической плотности

Предназначен для оценки биомассы культуры микроводорослей в режиме постоянного времени на всех стадиях роста. Данная задача продолжает оставаться одной из сложнейших в теоретическом, так и в практическом плане. Наиболее востребованным и точным методом для оценки биомассы является спектрофотометрический.

Устройство представляет собой фотометрическую ячейку, состоящую из стеклянной кюветы, изолированной от внешних источников освещения. С одной стороны кюветы находится монохроматический светодиод, световой поток которого направлен таким образом, чтобы полностью освещать кювету по всей площади. С обратной стороны кюветы находится фотоэлемент, к которому подключен вольтметр, регистрирующий изменение напряжения на фотоэлементе. Циркуляция культуры через кювету, обеспечивается аквариумным насосом.

Принцип действия фотометрической ячейки основан на применении закона свето-поглощения Бугера-Ламберта-Бера.

Источником света является монохроматический полупроводниковый светодиод красного цвета свечения. Световое излучение от светодиода проходит через проточную ячейку и частично поглощается исследуемой культурой микроводоросли. Прошедшее через ячейку световое излучение попадает на фотоприемник, в качестве которого используется полупроводниковый фотоэлемент. В фотоприемнике происходит преобразование света в электрический фототок, пропорциональный силе света. Дальнейшее передача фототока на систему управления позволит определять оптическую плотность в режиме реального времени, а также контролировать рост культуры микроводоросли

Измеритель подключен непосредственно к культиватору и работает с проточной культурой, передавая данные на систему обеспечения режима культивирования, для их последующей обработки и записи.

Измеритель освещенности предназначен для определения количества световой энергии, попадающей на поверхность культиватора как от естественного освещения, так и от светодиодной матрицы. Чувствительность датчика составляет 100 мВ на 10 кЛк. В диапазоне 0-200 мВ сохраняется линейная зависимость между освещенностью и вольт-амперными характеристиками, что и составляет измерительный диапазон прибора.

Измеритель pH предназначен для измерения кислотных и/или щелочных показателей, активности ионов водорода в жидкостях и активности других одновалентных катионов, оснащен температурной компенсацией и имеет высокую точность ($\pm 0,005$ pH). Датчик измерителя установлен непосредственно в емкости культиватора и позволяет получать данные в режиме реального времени.

Цифровой термометр необходим для контроля температуры и поддержания температурного режима питательной среды в культиваторе в процессе проведения исследований. Диапазон измерения температуры от 0 до +50°C, погрешность 0,1°C.

Система подачи питательной среды.

Система предназначена для обеспечения роста микроводорослей в режиме хемостата. Состоит из емкости для питательной среды и электромагнитного клапана. В качестве емкости для питательной среды целесообразно использовать 5-и литровый пластиковый бак. Питательная среда через шланг поступает к электромагнитному клапану, находящемуся в нормально закрытом состоянии.

При подаче управляющего сигнала от системы обеспечения режима культивирования, на клапан подается напряжение, он открывается, и питательная среда поступает в культиватор. Необходимо реализовать регулировку скорости подачи питательной среды, как программно, так и в ручном режиме.

Система питания.

В автономной экспедиционной установке к системе питания, предъявляются жесткие требования по обеспечению стабильной работы. Основная задача системы – обеспечение непрерывности электропитания как при наличии сети электропитания 220 В, так и при ее отсутствии.

В экспедиционных условиях очень важно в случае отключения или ухудшения качества электрической энергии на входе сетевого питания 220, обеспечить переход питания нагрузки на аккумуляторные батареи для непрерывного питания установки.

Для этих задач целесообразно применить инвертор 12 В – 220 В с системой бесперебойного питания мощностью не менее 1000 Вт и свинцовую батарею с напряжением 12 В и ёмкостью не менее 100 а/ч.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В предлагаемом проекте автономной экспедиционной установки, разработана оптимальная конструкция. Данная система в экспедиционных условиях позволит производить контроль основных параметров роста и физиологического состояния микроводорослей, а также возможность простого управления ими в непосредственной близости у водоема.

Главными преимуществами данной системы является мобильность, простота конструкции, доступность ремонта, возможность дальнейшего усовершенствования и также невысокая стоимость.

Применение установки в экспедиционных условиях, позволит в режиме реального времени получать данные о росте различных видов микроводорослей непосредственно у водоема, без использования специальной лаборатории.

Работа выполнена на базе ЦКП «Спектрометрия и хроматография» ФИЦ ИнБЮМ, в рамках темы госзадания № 0556-2021-0004 «Исследование механизмов управления продукционными процессами в биотехнологических комплексах с целью разработки научных основ получения биологически активных веществ и технических продуктов морского генезиса».

Список литературы / References:

1. Топачевский А.В. *Пресноводные водоросли Украинской ССР*. К.: Вища школа, 1984, 336 с. [Topachevsky A.V. *Freshwater algae of the Ukrainian SSR*. K.: Vishcha school, 1984, 336 p. (In Russ.)]
2. *Курс низших растений*. М.: Высшая школа, 1981, 520 с. [Course of lower plants. M.: Higher school, 1981, 520 p. (In Russ.)]
3. Минюк Г.С., Дробецкая И.В., Чубчикова И.Н., Терентьева Н.В. Одноклеточные водоросли как возобновляемый биологический ресурс: обзор. *МЭЖ*, 2008, № 2, с. 5-23. [Minyuk G.S., Drobetskaya I.V., Chubchikova I.N., Terentyeva N.V. Single-celled algae as a renewable biological resource: a review. *MEJ*, 2008, no. 2, pp. 5-23. (In Russ.)]
4. Тренкеншу Р.П., Геворгиз Р.Г., Боровков А.Б. *Основы промышленного культивирования дуналиеллы солоноводной (dunaliella salina teod.)*. Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика, 2005, с. 103. [Trenkenshu R.P., Gevorgiz R.G., Borovkov A.B. *Fundamentals of industrial cultivation of dunaliella salina teod.* Sevastopol: ECOSI-Hydrophysics, 2005, p. 103. (In Russ.)]
5. *Водоросли*: Справочник. Киев, 1989, 608 с. [Algae: A Handbook. Kiev, 1989, 608 p. (In Russ.)]
6. Цыганков А.А., Елизаров Е.Е. Патент РФ № RU2451446C1, 29.09.2010. *Фотобиореактор*. Опубликовано: 27.05.2012 Бюл. № 15. [Tsygankov A.A., Elizarov E.E. RF patent no. RU2451446C1, 09/29/2010. *Photobioreactor*. Published: 27.05.2012 Bul. no. 15. (In Russ.)]
7. Перт С.Д. *Основы культивирования микроорганизмов*. М.: Мир, 1978, 331 с. [Perth S.D. *Fundamentals of the cultivation of microorganisms*. M.: Mir, 1978, 331 p. (In Russ.)]
8. Fabregas J., Garcia D., Morales E. Renewal rate of semi-continuous culture of the microalga *Por-phyridium cruentum* modifies phyco-erythrin, exopolysaccharoide and fatty acid productivity. *J. Ferment. Bioengin.*, 1998, vol. 86, no. 5, pp. 463-467.
9. Novick A., Szilard L. Description of the chemostat. *Scien.*, 1950, vol. 112, pp. 715-718.
10. Vonshak A. Laboratory techniques for the cultivation of microalgae. *Handbook of micro-algal mass culture*, 1986, pp. 117-145.
11. Тренкеншу Р.П. Простейшие модели роста микроводорослей. 1. Периодическая культура. *Экология моря*, 2005, № 67, с. 89-97. [Trenkenshu R.P. The simplest models of microalgae growth. 1. Periodic culture. *Ecology of the Sea*, 2005, no. 67, pp. 89-97. (In Russ.)]
12. *Курс низших растений*. М.: Высшая школа, 1981, 520 с. [Course of lower plants. M.: Higher school, 1981, 520 p. (In Russ.)]
13. Тренкеншу Р.П., Лелеков А.С., Боровков А.Б., Новикова Т.М. Унифицированная установка для лабораторных исследований микроводорослей. *Вопросы современной альгологии*, 2017, № 1, с. 28.

[Trenkenshu R.P., Lelekov A.S., Borovkov A.B., Novikova T.M. Standardized installation for laboratory research of microalgae. *Questions of modern algology*, 2017, no. 1, p. 28. (In Russ.)]

14. Тренкеншу Р.П., Лелеков А.С. *Моделирование роста микроводорослей в культуре*. Белгород: ООО «Константа», 2017, 152 с. [Trenkenshu R.P., Lelekov A.S. *Modeling the growth of microalgae in culture*. Belgorod: LLC "Constanta", 2017, 152 p. (In Russ.)] DOI: 10.21072/978-5-906952-28-8.

DEVELOPMENT OF AN AUTONOMOUS EXPEDITION UNIT FOR RESEARCHING MICROALGAE UNDER NATURAL CONDITIONS

Gulin A.S., Trenkenshu R.P.

A.O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas RAS
Nakhimov str., 2, Sevastopol, 299011, Russia; e-mail: gulins_gent@mail.ru

Abstract. The paper formulates the main problems associated with the study of microalgae in expeditionary conditions. The substantiation of the need for the development of an autonomous expeditionary installation designed to assess the primary production of reservoirs, directly at the reservoir, in the absence of laboratory conditions has been carried out. After considering the tasks to be solved with the help of the expeditionary installation, a list of the necessary systems with their detailed description has been compiled.

Key words: *expeditionary installation for studying the growth of microalgae, cultivator, chemostat, measurement of optical density.*