

4. Юрченко В.В. *Микроядерный тест на буккальных эпителиоцитах человека. Полиорганный микроядерный тест в эколого-гигиенических исследованиях.* М.: Гениус, 2007, 312 с. [Yurchenko V.V. *The micronuclear test on buccal epitheliocytes of a man. The multi-organ micronuclear test in ecological and hygienic studies.* Moscow: Genius, 2007, 312 p. (In Russ.)]

5. Майер А.В., Дружинин В.Г., Ларионов А.В. Генотоксические и цитотоксические эффекты в буккальном эпителиоцитах детей, проживающих в экологически различающихся районах Кузбасса. *Цитология*, 2010, т. 52, № 4, с. 305- 310. [Mayer A.V., Druzhinin V.G., Larionov A.V. Genotoxic and cytotoxic effects in buccal epitheliocytes of children living in ecologically distinct areas of Kuzbass. *Cytology*, 2010, vol. 52, no. 4, pp. 305-310. (In Russ.)]

ОПРЕДЕЛЕНИЕ КПД ФОТОБИОСИНТЕЗА ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ПЛОТНОСТЯХ КУЛЬТУРЫ *SPIRULINA (ARTHROSPIRA) PLATENSIS*

Чекушкин А.А.¹, Лелеков А.С.²

¹Севастопольский государственный университет
ул. Университетская, 33, г. Севастополь, 299053, РФ
e-mail: anatoliy chekushkin@mail.ru

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

Аннотация. В работе был получен КПД фотобиосинтеза при разных плотностях культуры *Spirulina platensis*. По спектру поглощения культуры и спектру излучения световой решетки рассчитаны коэффициенты поглощения энергии. Показано, что КПД фотобиосинтеза увеличивается с ростом плотности культуры, достигая максимального значения 5,09 % на линейном участке. Недостатком проведенных расчетов является априори постоянное значение калорийности биомассы.

Ключевые слова: закон Бугера-Ламберта-Бера, коэффициент поглощения энергии, калорийность биомассы.

DETERMINATION OF PHOTOBIO SYNTHESIS EFFICIENCY IN VARIOUS DENSITY *SPIRULINA (ARTHROSPIRA) PLATENSIS* CULTURE

Chekushkin A.A.¹, Lelekov A.S.²

¹Sevastopol State University
Universitetskaya St., 33, Sevastopol, 299053, Russia
e-mail: anatoliy chekushkin@mail.ru

²Institute of Marine Biological Research. A.O. Kovalevsky
Nachimov av., 2, Sevastopol, 299011, Russia
e-mail: a.lelekov@yandex.ru

Annotation. The efficiency of photobiosynthesis at various densities of *Spirulina platensis* culture was obtained. The energy absorption coefficients were calculated from the absorption spectrum of the culture and the emission spectrum of the light grid. It was shown that the photobiosynthesis efficiency increases with the growth of the culture density, reaching a maximum value of 5.09% in the linear section. The drawback of the calculations is a priori constant value of caloric value of the biomass.

Key words: Buger-Lambert-Beer law, energy absorption coefficient, caloric value of biomass.

Основным фактором среды, который определяет скорость роста микроводорослей, является свет. В литературе приводится множество работ, посвящённых влиянию облучённости на скорость фотобиосинтеза, где под фотобиосинтезом следует понимать согласованный синтез всех компонентов организма, т. е. биологический синтез живой структуры. Однако немало важным параметром является эффективность утилизации световой энергии. Эту величину можно выразить через КПД фотобиосинтеза [1]. Величина КПД фотобиосинтеза определяется количеством поглощённой клетками энергии, т. е. спектральными характеристиками культуры микроводорослей, а также приростом биомассы с учётом её калорийности. Несмотря на то, что исследования зависимости КПД фотобиосинтеза микроводорослей начаты еще с 70-ых 80-ых годах прошлого века [2], до сих пор нет чёткого ответа на вопрос, где теряется большая часть запасенной при фотосинтезе энергии. Исследования зависимости КПД фотобиосинтеза от внешних условий среды позволят получить новые знания о внутренней организации биосинтетических процессов, протекающих в клетках микроводорослей. Кроме того знание КПД фотобиосинтеза позволит дать рекомендации по выбору источников световой энергии [3] с целью оптимизации процесса культивирования микроводорослей, а также по организации промышленных производств микроводорослей.

Целью работы являлась определение КПД фотобиосинтеза при различных плотностях культуры микроводорослей.

Материал и методы.

В качестве объекта исследования была выбрана *Spirulina (Arthrospira) platensis*, полученная из коллекции Института морских биологических исследований им. А.О. Ковалевского. *S. platensis* выращивали в унифицированной лабораторной установке на питательной среде Заррук [4]. Температура поддерживалась на уровне $25 \pm 0,5^\circ\text{C}$. Освещённость поверхности фотобиореактора составляла 6,5 клк.

В эксперименте проводили измерение температуры, оптической плотности культуры микроводорослей, а также сухой биомассы. Перед отбором проб объём в фотобиореакторе доводили дистиллированной водой до начального, компенсируя испарение. Температуру суспензии измеряли ртутным термометром непосредственно в фотобиореакторе, абсолютная погрешность измерений составляла $0,5^\circ\text{C}$. Освещённость поверхности фотобиореактора определяли 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 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 с светорассеянием. При выходе показаний прибора за границы рабочего диапазона (от 30 до 70 % пропускания), проба разбавлялась дистиллированной водой. Для определения спектра поглощения культуры использовали двулучевой спектрофотометр ЮНИКО-4802. Для определения спектра излучения источника света, состоящего из 10 люминесцентных ламп, использовали спектрофотометр X-rite ColorMunki Photo с рабочим диапазоном от 380 нм до 730 нм.

Результаты и их обсуждение.

По определению, КПД фотобиосинтеза есть отношение двух величин: запасённой (E_x) и поглощённой световой энергии (E_n):

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

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

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

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 – рабочий объём культуры, л.

Следовательно, выражение для определения КПД фотобиосинтеза можно представить в виде:

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

Для определения количества поглощённой световой энергии используем закон Бугера-Ламберта-Бера, который представляется как:

$$I = I_0 \cdot 10^{-D}, \frac{I}{I_0} = 10^{-D}, -\lg(T) = D .$$

Коэффициент поглощения света α для соответствующей световой волны:

$$\alpha = \frac{I_0 - I}{I_0} = 1 - T .$$

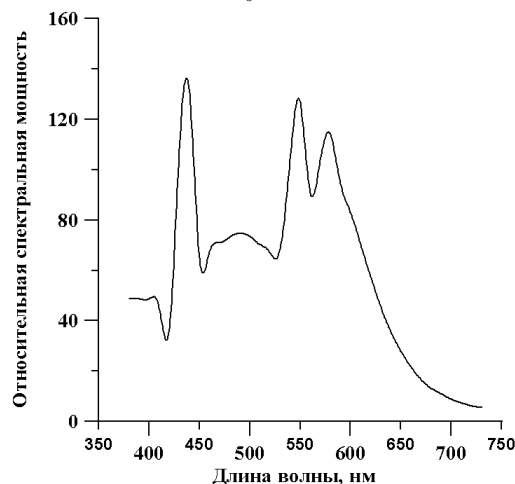


Рисунок 1 – Спектр излучения люминесцентных ламп TDM Electric 18 Вт, используемых в эксперименте

Закон Бугера-Ламберта-Бера не всегда применим для расчёта коэффициента поглощения вследствие высокой гетерогенности культур микроводорослей [5]. Однако для небольших концентраций клеток, которые выбраны в данной работе для расчёта η , зависимость оптической плотности культуры от биомассы достаточно точно описывается линейным уравнением.

Для разных длин волн светового потока величина a разная и может быть определена по спектру культуры. Для расчёта коэффициента поглощения энергии a_{sp} необходимо a умножить на долю энергии лампы δ , приходящуюся на каждую длину волны. В эксперименте мы использовали люминесцентные лампы, спектр которых представлен на рисунке 1. Для нахождения δ разделим значения относительной спектральной мощности на их суммарную величину.

Для нахождения коэффициента поглощения света a культурой *S. platensis* были записаны её спектры поглощения на разных плотностях, которые стабилизировали в полупроточном режиме культивирования. Кривая роста спирулины представлена на рисунке 2.

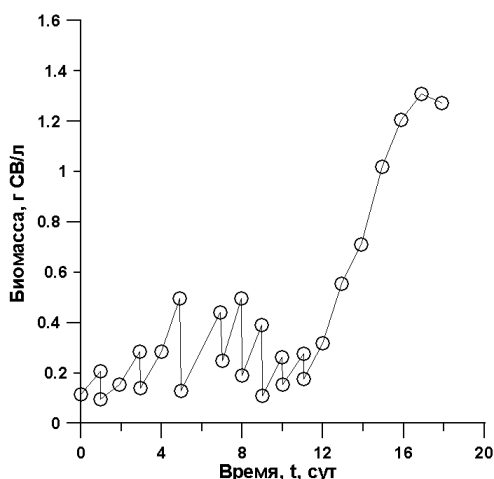


Рисунок 2 – Кривая роста культуры *S. platensis* в эксперименте

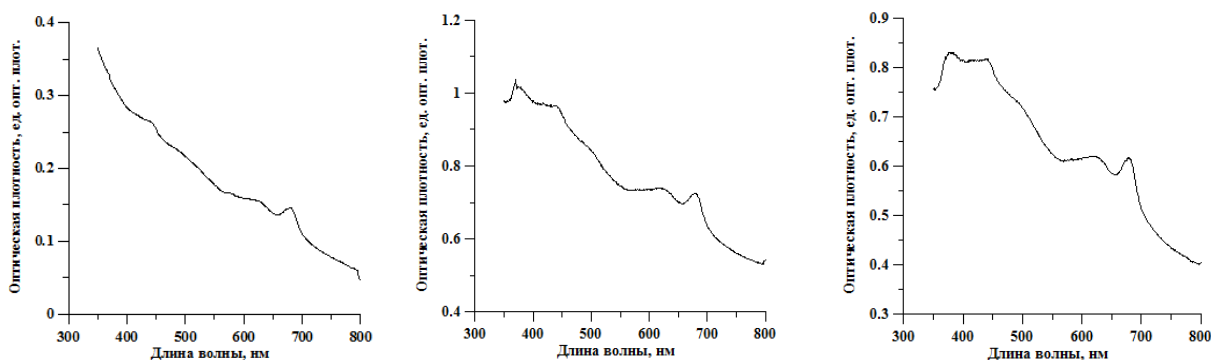


Рисунок 3 – Спектры поглощения культуры *S. platensis* на различных плотностях. Пояснения в тексте

Суммируя полученные значения a_{sp} в области ФАР, получим интегральный коэффициент поглощения энергии. Для плотности культуры 0,16 г СВ/л – $a_{sp} = 0,6$; для плотности 0,32 г СВ/л – $a_{sp} = 0,95$; для плотности 0,39 г СВ/л – $a_{sp} = 0,97$. Полученные значения свидетельствуют о том, что при плотности свыше 0,4 г СВ/л практически вся падающая на поверхность культуры энергия поглощается, т. е. $a_{sp} = 1$. Отметим, что при этом культура переходит в фазу линейного роста, величина максимальной продуктивности составила 0,23 г СВ/(л·сут).

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

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

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

Для используемых ламп, с учётом указанного спектра (рисунок 1), величина N составляет 2,29. Таким образом, на поверхность падает:

$$E_0 = 1,464 \cdot 10^{-3} \cdot 2,29 \cdot 6500 = 21,79 \text{ Вт/м}^2.$$

Так как площадь поверхности фотобиореактора в эксперименте составляла 0,05 м², на поверхность культуры падает около 1,09 Вт ФАР.

Для нахождения запасённой в биомассе энергии, определим продуктивность культуры *S. platensis* для трёх вышеуказанных плотностей: для 0,16 г СВ/л она составляет $P = 0,063$ г СВ/(л·сут), для 0,32 г/л – $P = 0,15$ г СВ/(л·сут) и для 0,39 г СВ/л $P = 0,21$ г СВ/(л·сут). Средняя калорийность 1 г биомассы *S. platensis*, как и

многих других видов микроводорослей, составляет около 5 ккал или 20,86 кДж [7]. Отметим, что калорийность биомассы определяется её биохимическим составом (соотношением белков, жиров и углеводов), который может варьировать в широких пределах и определяется условиями культивирования [8]. При дальнейших расчётах будем использовать указанное среднее значение калорийности.

Таким образом, мы можем рассчитать величину КПД фотобиосинтеза для различных плотностей *S. platensis*. Результаты представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Значения КПД фотобиосинтеза, коэффициента поглощения энергии и продуктивности для различных плотностей культуры *S. platensis*

Плотность культуры, В, г СВ/л	Коэффициент поглощения, a_{sp}	Продуктивность, г СВ/(л·сут)	КПД фотобиосинтеза, %
0,16	0,6	0,063	2,32
0,32	0,95	0,15	3,50
0,39	0,97	0,21	4,79
0,4<В<1	1	0,23	5,09

Полученные результаты свидетельствуют о том, что с ростом плотности культуры КПД фотобиосинтеза увеличивается. Подобные заключения подтверждаются литературными данными [2]: с ростом плотности культуры количество световой энергии, падающей на клетку, уменьшается, что приводит к повешению эффективности её утилизации. Согласно литературным данным [2,3] η достигает 11-15 % и имеет сложный характер зависимости от поверхностной облучённости культуры [2].

Отметим, что при расчёте КПД фотобиосинтеза мы считали калорийность биомассы постоянной. В реальных условиях эта величина варьирует из-за изменения биохимического состава клеток микроводорослей. Так же при определении коэффициента поглощения энергии спектр культуры микроводорослей необходимо регистрировать на приборе с интегрирующей сферой, позволяющей избежать ошибок связанных с рассеиванием света.

Список литературы / References:

- 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. [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. (In Russ.)]
- Белянин В.Н. Светозависимый рост низших фототрофов. Новосибирск: Наука, 1984, 96 с. [Belyanin V.N. *Light-dependent growth of lower phototrophs*. Novosibirsk: Science, 1984, 96 p. (In Russ.)]
- Геворгиз Р.Г., Щепачёв С.Г., Король О.Н. Предельная оценка продуктивности микроводорослей в условиях естественного и искусственного освещения. *Экология моря*, Спец. выпуск 80: Биотехнология водорослей, 2010, с. 29-33. [Gevorgiz R.G., Shchepachev S.G., Korol O.N. Limit assessment of microalgae productivity in natural and artificial illumination conditions. *Ekologiya morya*, Spec. Release 80: Biotechnology of algae, 2010, pp. 29-33. (In Russ.)]
- 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), <http://algology.ru/1097>. (In Russ.)]
- Тренкеншу Р.П., Лелеков А.С., Гаврилов П.Е., Набойщиков В.С. Математическая модель зависимости оптической плотности культуры от биомассы микроводорослей. *Актуальные вопросы биологической физики и химии*, 2016, т. 1, с. 77-82. [Trenkenshu R.P., Lelekov A.S., Gavrilov P.E., Naboichchikov V.S. The mathematical model of the dependence of the optical density of culture on the microalgae biomass. *Aktualnyie voprosyi biologicheskoy fiziki i himii*, 2016, vol. 1, p. 77-82. (In Russ.)]
- Айзенберга Ю.Б. *Справочная книга по светотехнике*. Энергоатомиздат, 1983, 472 с. [Eisenberg Y.B. *Reference book on lighting equipment*. Energoatomizdat, 1983, 472 p. (In Russ.)]
- Белянин В.Н., Сидько Ф.Я., Тренкеншу А.П. *Энергетика фотосинтезирующей культуры микроводорослей*. Новосибирск: Наука, 1980, 136 с. [Belyanin V.N., Sidko F.Y., Trencencu A.P. *Power of the photosynthetic culture of microalgae*. Novosibirsk: Nauka, 1980, 136 p. (In Russ.)]
- Gatenby C.M., Orcutt D.M., Kreeger D.A. [et. al.] Biochemical composition of three algal species proposed as food for captive freshwater mussels. *Journal of Applied Phycology*, 2003, vol. 15, p. 1-11.