

## СВЕТОДИОДНЫЙ БИОРЕАКТОР ДЛЯ ФОТОСИНТЕЗА ЗЕЛЕННЫХ ВОДОРОСЛЕЙ

А. М. Холиков, М. С.Тожибоев

НИИР

### ARTICLE INFO.

#### Ключевые слова:

### Аннотация

Часто говорят о фототрофной функции фотосинтеза, понимая под этим использование энергии света в различных эндогенических реакциях в живом организме. Фотосинтез осуществляют высшие растения, водоросли и некоторые бактерии. Он играет определяющую роль в энергетике биосферы.

<http://www.gospodarkainnowacje.pl/> © 2023 LWAB.

Мир водорослей огромен. Он занимает в растительном царстве совершенно особое, исключительное по своему значению место, как в историческом аспекте, так и по той роли, которая принадлежит ему в общем круговороте веществ в природе. Вместе с тем само понятие "водоросли" в научном отношении страдает большой неопределённостью. Это заставляет специально рассмотреть отличие относимых сюда растительных организмов от других представителей растительного царства

Действительно, слово «водоросли» означает лишь то, что это растения, живущие в воде. Однако в ботанике этот термин применяется в более узком смысле, и не все растения, наблюдаемые нами в водоёмах, можно назвать водорослями. С другой стороны, именно водоросли мы часто попросту не замечаем в водоёмах, так как очень многие из них нелегко распознать невооружённым глазом.

Приглядываясь к различным водоёмам, особенно к озёрам, мы прежде всего замечаем обилие растений. Некоторые из них прикреплены ко дну. К ним относятся, например, крупные зелёные скопления так называемой тины. Здесь же нередко встречаются и более крупные водоросли, состоящие из хорошо заметных на глаз простых или ветвящихся нитей, или совсем крупные хоровые водоросли, внешне похожие на хвощ.

С другой стороны, значительное количество микроскопических водорослей, таких же как в водоёмах, произрастает и на суше: на поверхности почвы и в самой её толще, на деревьях, камнях. Правда, жизнь этих водорослей тоже тесно связана с водой, однако они могут довольствоваться только атмосферной и грунтовой влагой, росой. В отличие от "водных" водорослей, эти водоросли легко переносят высыхание и очень быстро оживают при малейшем увлажнении. В царстве растений водоросли относятся к обширному подцарству низших, или слоевковых растений, куда входят также бактерии, грибы и лишайники. Как и все низшие растения, водоросли размножаются вегетативно или с помощью спор, то есть относятся к споровым растениям. Однако в физиологическом отношении водоросли резко отличаются от

остальных низших растений наличием хлорофилла, благодаря которому они способны ассимилировать на свету углекислый газ. Кроме того, многие водоросли, обладающие хорошо развитым хлорофиллом, помимо фототрофного, могут быть свойственны и другие типы питания.

Таким образом, исходя из сказанного, легко вывести точное научное определение водорослей. Водоросли – это низшие, то есть слоевцовые споровые растения, содержащие в своих клетках хлорофилл, и живущие преимущественно в воде. Такое определение, однако, не даёт представление о том огромном разнообразии в строении тела, которое свойственно водорослям. Здесь мы встречаемся и с микроскопическими организмами – одноклеточными и многоклеточными, и с крупными формами различного строения. Большого разнообразия достигают здесь способы размножения и строение органов размножения. Даже по окраске водоросли неодинаковы, так как одни содержат только хлорофилл, другие ещё ряд дополнительных пигментов, окрашивающие их в различные цвета.

Научной литературе до сих пор продолжают споры о положении в общей системе, с одной стороны, синие – зелёных водорослей и, с другой стороны, всех тех водорослей, которые представлены одноклеточными подвижными формами, снабжёнными органами движения – жгутиками (это почти все эвгленовые водоросли, большая часть пиррофитовых и золотистых водорослей и отдельные классы жёлто – зелёных и зелёных водорослей).

Результаты и рассуждения. Распространённость водорослей в водоёмах. Водоросли - одни из древнейших организмов, населяющих нашу планету. Пожалуй, только бактерии могут поспорить с ними в древности происхождения и длительности существования. В прошлые геологические эпохи, как и в настоящее время, водоросли населяли океаны, реки, озёра и другие водоёмы. Обогатив атмосферу кислородом, они вызвали к жизни мир разнообразных животных и способствовали развитию аэробных бактерий; они явились родоначальниками растений, заселивших сушу, и как это не удивительно, создали могучие толщи горных пород.

В воде и на суше, в снегах, льдах и горячих источниках, по всему земному шару - от просторов Северного Ледовитого океана и его островов, до тропиков, и от тропиков до снегов и скал Антарктиды, от морских глубин до высоких гор - всюду мы находим водоросли. Их микроскопические размеры способствуют переносу на большие расстояния. Водные течения разносят их по морям и океанам. Такую же роль выполняют рыбы, особенно проходные. Выброшенные из воды на берег и высохшие, подхваченные с илом и пылью с поверхности скал и почвы ветром и птицами - водоросли переносятся на большие расстояния. Пути и способы распространения водорослей исключительно многообразны и полностью обеспечивают их повсеместное разнесение.

Наиболее общим выражением их является распределение водорослей по широтным зонам: в тёплых тропических морях, где условия более благоприятны, мы находим и большее количество видов; в холодных арктических морях флора водорослей по видовому составу значительно беднее.

Распространённые по всему земному шару, водоросли, несомненно должны играть значительную роль в жизни природы. На первый взгляд водоросли малозаметны и роль их кажется незначительной, и только в исключительных случаях, как, например, в густых зарослях морских макрофитов или при "цветении" воды, вызываемом планктонными водорослями, они поражают своим изобилием. Произведённые подсчёты показывают, что в масштабе всей Земли роль водорослей в общем балансе живого вещества оказывается поистине огромной.

Основное значение водорослей в жизни природы вытекает из их физиологических особенностей как зелёных растений: подобно высшим зелёным растениям на суше, водоросли в воде являются основным создателем органического вещества. Таким образом, можно сказать, что весь

остальной мир современных живых существ воды в той или иной мере обязан своим существованием водорослям, так как водоросли, благодаря содержанию в них хлорофилла, способны созидать органические вещества своего тела из неорганических веществ окружающей их воды.

Следовательно они являются в воде производителями той первопищи, которой в дальнейшем пользуются все остальные лишённые хлорофилла водные организмы.

Огромное значение имеет также то обстоятельство, что водоросли в процессе фотосинтеза выделяют свободный кислород, необходимый для дыхания водных организмов, как животных, так и растительных.

Анализируем способы питания водорослей. Несмотря на удивительное многообразие жизненных форм растений, большинство из них объединяет уникальная способность, которая определяется способом их питания.

В отличие от животных организмов и многих бактерий, использующих для своей жизнедеятельности готовые органические соединения, у растений выработалась в ходе эволюции способность использовать для питания такие полностью окислённые вещества, как углекислота и вода, и создавать на их основе органические соединения. Этот процесс в природе осуществляется за счёт энергии солнечного света и сопровождается выделением кислорода. Использование световой энергии для биологических синтезов стало возможным благодаря появлению у растений комплекса поглощающих свет пигментов, важнейшим из которых является хлорофилл.

Функция фотосинтеза растений является, по существу, биохимическим процессом преобразования световой энергии в химическую.

Водоросли, уже простейшие из них – сине – зелёные, являются первыми организмами, у которых появилась в процессе эволюции способность осуществлять фотосинтез с использованием воды в качестве источника водорода и выделением свободного кислорода, то есть процесс, свойственный всем другим водорослям, а за ними и высшим растениям.

Осуществляемый растениями в грандиозном масштабе процесс преобразования энергии света в химическую энергию продуктов фотосинтеза является практически единственным "руслем", через которое "вливается" в биологически приемлемой форме энергия, необходимая для поддержания жизни и круговорота веществ в биосфере нашей планеты. Именно поэтому выдающийся русский естествоиспытатель К.А. Тимирязев говорил о «космической роли зелёных растений». О размерах фотосинтетической деятельности растений в планетарном масштабе можно судить по тому, что весь кислород атмосферы Земли имеет, как сейчас доказано, фотосинтетическое происхождение. Залежи каменного угля представляют собой своеобразный "запас" некогда преобразованной в результате фотосинтеза растений солнечной энергии, складированной в определённые геологические эпохи.

Второй особенностью питания водорослей и других растений, не менее важной, хотя и не такой специфичной, как фотосинтез, является их способность усваивать азот, серу фосфор, калий и другие минеральные элементы в виде ионов минеральных солей и использовать их для синтеза таких важнейших компонентов живой клетки, как аминокислоты, белки, нуклеиновые кислоты, макроэргические соединения, вещества вторичного обмена. Среди сине – зелёных водорослей имеются формы, способные осуществлять процесс фиксации свободного азота атмосферы и превращать его в органические азотные вещества своего тела.

Для водорослей как фототрофных организмов первым условием существования является наличие света, источников углерода и минеральных веществ, а основной средой жизни для них служит свободная вода. Однако это справедливо не для всех, а только для большинства

водорослей и не исчерпывает всего многообразия наблюдающихся у них способов питания и мест поселения.

Кроме того, на жизнь водорослей оказывают большое влияние и другие, химические и физические факторы внешней среды — химический состав субстрата, температура и т.д., весьма различные в разных местах. Физиологическая пластичность водорослей и их приспособленность к разным экологическим условиям поистине огромны. На состав и распределение водорослей по отдельным водоемам, на его изменение в пределах одного водоема влияет большой комплекс факторов. Первостепенное значение из физических факторов имеют световой режим, температура воды, а для глубоких водоемов — вертикальная устойчивость водных масс. Из химических факторов основное значение имеют соленость воды и содержание в ней питательных веществ, в первую очередь солей фосфора, азота, а для некоторых видов также железа и кремния.

Влияние освещенности как экологического фактора наглядно проявляется в вертикальном и сезонном распределении фитопланктона. В морях и озерах фитопланктон существует лишь в верхнем слое воды. Нижняя граница его в морских, более прозрачных водах находится на глубине 40—70 м и лишь в немногих местах достигает 100—120 м (Средиземное море, тропические воды Мирового океана). В озерных, значительно менее прозрачных водах фитопланктон существует обычно в верхних слоях, на глубине 10—15 м, а в водах с очень малой прозрачностью встречается на глубине до 2—3 м.

Температура воды — важнейший фактор общего географического распределения фитопланктона и сезонных циклов его, но действует этот фактор во многих случаях не прямо, а косвенно. Многие водоросли способны переносить большой диапазон колебаний температуры (эвритермные виды) и встречаются в планктоне разных географических широт и в разные сезоны года! Однако зона температурного оптимума, в пределах которого наблюдается наибольшая продуктивность, для каждого вида обычно ограничена небольшими отклонениями температуры.

Одним из важнейших факторов в распределении водорослей является общая соленость воды. Основную массу природных бассейнов составляют бассейны морские со средней соленостью 35 г солей на 1 л воды и бассейны пресноводные, в которых содержится солей примерно 0,01—0,5 г на 1 л воды. Это определяет разделение водорослей на морские и пресноводные, и только очень немногие из них могут жить как в одной, так и в другой воде. В пределах каждого бассейна — континентального и морского — водоросли могут населять толщу воды, свободно плавать в ней, составляя группировку, называемую планктоном, или поселяться на дне, образуя бентос.

Однако водоросли могут жить не только в водоемах. При наличии хотя бы периодического увлажнения многие из них успешно развиваются на различных наземных предметах — скалах, коре деревьев и т. д. Вполне благоприятной средой для развития водорослей служит также толща почвенного слоя. Наконец, известны и такие группировки, которые характеризуются резко отличными экологическими особенностями, выходящими за рамки обычных условий, нормально свойственных всюду распространенным водным и вневодным местообитаниям. Некоторые из них представляют большой интерес.

Тимирязев постулировал, что при ассимиляции  $\text{CO}_2$  хлорофилл служит оптическим сенсориализатором (т. е. веществом, увеличивающим чувствительность к свету) и что он непосредственно участвует в процессе фотосинтеза, необратимо переходя из восстановленного состояния в окисленное. Он сформулировал также идею о космической роли фотосинтеза: фотосинтез — единственный процесс, с помощью которого космическая солнечная энергия улавливается и остается на Земле, трансформируясь в другие формы энергии. Тимирязев писал, что в хлоропласте лучистая энергия солнечного света превращается в химическую энергию

углеводов. Крахмал, клейковина и другие соединения, консервирующие солнечную энергию, служат нам пищей. Освобождаясь в нашем теле в процессе дыхания, эта энергия солнечного луча согревает нас, приводит в движение, поддерживает мышление.

Результаты изучения воздушного питания растений за первые сто лет после опытов Пристли нашли свое выражение в общем уравнении фотосинтеза:

Свет  $6\text{CO}_2 + 12\text{H}_2\text{O} \rightarrow \text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6 + 6\text{CO}_2 + 6\text{H}_2\text{O}$  хлорофилл

Рассмотрим технических способ решения проблем. Анализ существующих способов и технических средств для лабораторного производства и синтеза хлореллы, показал его практико-экспериментальные достоинства и недостатки.

Наиболее близким по технической сущности и конструктивному исполнению к предлагаемому фотобиореактору является биореактор для культивирования одноклеточных водорослей, содержащий цилиндрическую емкость для питательной среды, включающую днище и съемную крышку, систему подвода биораствора и слива готовой суспензии, аэратор, источник освещения в виде ленты со светодиодными источниками излучения, датчик температуры и фотодатчик, при этом днище и съемная крышка выполнены с отражающими поверхностями, а емкость выполнена с возможностью автоматического слива готовой суспензии по управляющему сигналу фотодатчика.

Недостатком этого реактора является низкая эффективность поглощения культивированным материалом источника света, поскольку часть светодиодных лучей, исходящих от ленты отражаются в наружу. Кроме этого внутренняя поверхность реактора будет зарастать биомассой микроорганизмов и производительность реактора будет падать.

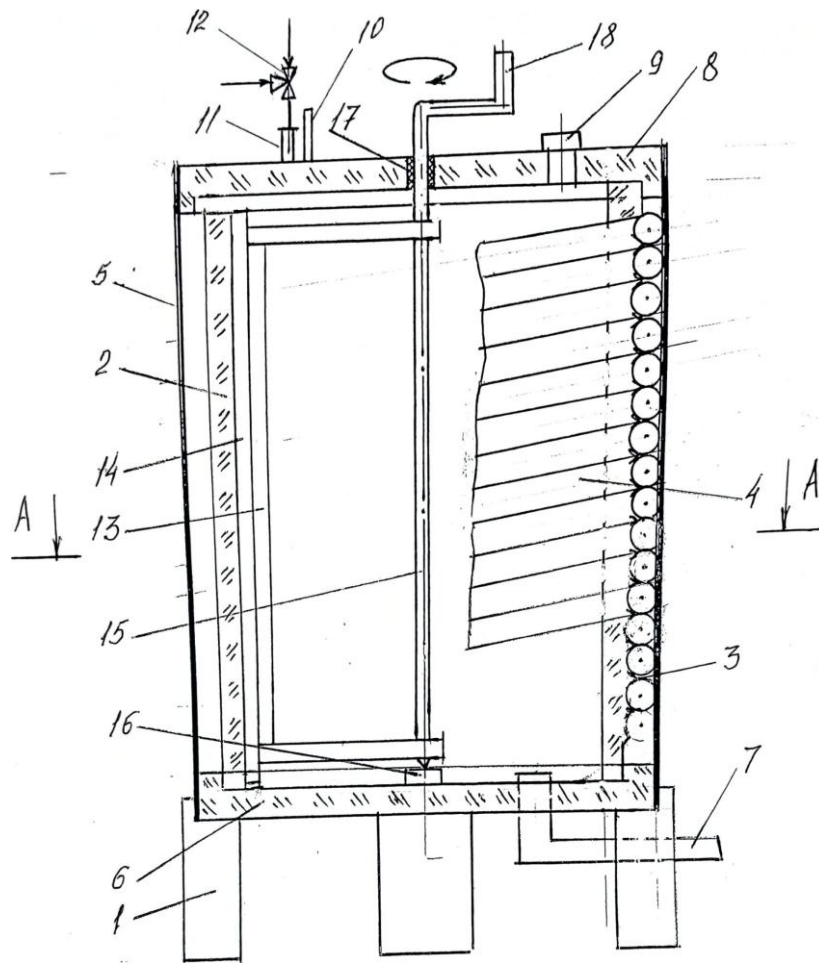
Для устранения этих недостатков нами предложен дальнейшее усовершенствование известного биореактора, и именно технический результат достигается тем, что в известном биореакторе для культивирования водорослей, содержащем цилиндрическую светопрозрачную емкость с крышкой и днищем, систему подвода биораствора и слива готовой суспензии, аэратор, источник освещения в виде светодиодной ленты, датчик температуры и фотодатчик, емкость с наружной стороны выполнена со спиралевидным рифлением, с размещенным в нем светодиодной гирляндой, поверх которой натянута светоотражающая алюминиевая фольга, а внутри емкости расположен прилегающий к стенке стеклоочиститель, установленный соосно емкости с возможностью периодического радиального вращения.

Конструктивно биореактор для фотосинтеза зеленых водорослей (рис 1) содержит установленную на подставке 1 цилиндрическую емкость 2, выполненную из светопрозрачного материала, например, стекла. Наружная поверхность емкости выполнена со спиралевидными рифлями 3 в которых укладывается цельная светодиодная гирлянда 4, поверх которой натянута светоотражающая алюминиевая фольга 5.

Также емкость содержит днище 6 с отражающей поверхностью и сливной патрубком 7. На съемной крышке 8 расположены фотодатчик 9, термометр 10, патрубок 11 ввода биораствора и трехходовой кран 12 для подачи аэратора. Внутри емкости расположен стеклоочиститель прилегающий к стенке и стоящий из рамы 13, эластичного скребка 14 и оси 15, установленной на нижней 16 и верхней 17 опорах. Вращение скребка осуществляется рукояткой 18.

Предлагаемый биогенератор для фотосинтеза зеленых водорослей работает следующим образом.

В цилиндрическую емкость 2, изготовленную из стекла методом центробежного литья со



**Рис.1. Биореактор для фотосинтеза зеленых водорослей**

спиралевидными рифлями высотой  $h = 3\text{ мм}$  и толщиной стенки  $b = 5\text{ мм}$  заливают биораствор через патрубок 11. Биораствор содержит необходимые для роста микроорганизмов компоненты, например (г/л):  $\text{NH}_4\text{Cl} - 0,5$ ;  $\text{Mg SO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} - 0,02$ ;  $\text{K H}_2\text{PO}_4 - 0,72$ ;  $\text{Cu SO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O} - 0,0016$  и др., рН полученной среды составляет 6-7. Затем вводят суспензию хлореллы и насыщают суспензию газовой смесью, содержащей до 2% диоксида углерода, подаваемого через кран 12 из баллона (на рисунке не показан). Одновременно включают питающее напряжение на спирально расположенную в рифлях 3 светодиодную гирлянду 4, обеспечивающую, содержащий в емкости биоматериал, освещением. Температуру реакционной среды контролируют термометром 10, которая не должна превышать  $28,5 \dots 30\text{ }^\circ\text{C}$ .

В начальный период рукояткой 18 приводят в движении раму 13 стеклоочистителя и перемешивают реакционную смесь не более 10 мин. При этом начинается прирост хлореллы, которая увеличивается в 2-4 раза. Через фотодатчик 9 определяется оптическая плотность суспензии и при достижении максимального значения порядка 40-50 млн. кл. куб. см, он выдает управляющий сигнал на автоматический слив готовой биомассы через сливной патрубок 7.

В предлагаемой нами биореакторе использовались светодиодная гирлянда 4 в качестве источника излучения. Размещение ее в спиралевидных рифлях 3 высотой  $h = 3\text{ мм}$  при толщине стенки емкости  $b = 5\text{ мм}$  обеспечивает почти 100%-ное проникновение лучей через толщу синтезируемого материала. Натянутая сверху гирлянды 4 светоотражающая фольга 5, предотвращает потерю световой энергии в окружающую среду и повышает коэффициент полезного действия установки. Размещения внутри емкости, примечательно плотно к стенке

стеклоочистителя и установленного с возможностью вращения на опорах 16 и 17; обеспечивает перемешивание реакционной смеси (на начальной стадии) и предотвращает плотное зарастание биомассой микроорганизмов на поверхности емкости, что приводит к понижению светопрозрачности и в конечном итоге, к потере производительности реактора.

**Выводы.** Микроскопическими организмами большого разнообразия достигают одноклеточными и многоклеточными, и с крупными формами различного строения. Большого разнообразия достигают здесь способы размножения и строение органов размножения. Даже по окраске водоросли неодинаковы, так как одни содержат только хлорофилл, другие ещё ряд дополнительных пигментов, окрашивающие их в различные цвета.

В предлагаемой нами биореакторе использовались светодиодная гирлянда в качестве источника излучения. Размещения внутри емкости, примечаящего плотно к стенке стеклоочистителя и установленного с возможностью вращения на опорах, обеспечивает перемешивание реакционной смеси и предотвращает плотное зарастание биомассой микроорганизмов на поверхности емкости, что приводит к понижению светопрозрачности и в конечном итоге, к потере производительности реактора.

### Литература

1. Биотехнология: Учебное пособие для ВУЗов /Под ред. Н.С. Егорова, В.Д. Самуилова.- М.: Высшая школа, 1987, стр. 15-25.
2. Основы фармацевтической биотехнологии: Учебное пособие / Т.П. Прищеп, В.С. Чучалин, К.Л. Зайков, Л.К. Михалева. - Ростов-на-Дону.: Феникс; Томск: Издательство НТЛ, 2006.
3. Производство белковых веществ. Биотехнология. Кн. 5 : учеб. пособие для вузов / [В.А.Быков и др.]. - М.: Высш. шк. - 1987. - 142 с.
4. Сазыкин Ю. О. Биотехнология: учебное пособие для студентов высш. учеб. заведений / Ю.О. Сазыкин, С. Н. Орехов, И.И. Чакалева; под ред. А.В. Катлинского. - 3-е изд., стер. - М.: Издательский центр "Академия", 2008.
5. Северин С.Е. Биохимия и медицина - новые подходы и достижения / С.Е. Северин. - М.: Русский врач, 2006. - 94 с
6. Научно исследовательский институт альгобиотехнологии // Использование хлореллы для выращивания и откорма сельскохозяйственных животных. Пенза, 2004 - С. 8.
7. Лисовский Г. М. Управляемое культивирование микроводорослей. Изд. «Наука», 1964. – 153с.
8. Мещерякова Ю.В. «Культивирование микроводоросли хлорелла с целью получения биотоплива»/ Ю.В. Мещерякова, С.А. Нагорнов// университет им. В.И. Вернадского, Вопросы современной науки и практики – 2012 – специальный выпуск (43) - С. 33–36. 48
9. Алексеев М. А. , Арьянова Э. Д. , Иванова С. С. , Карпова О. С. , Коршунов К. О. , Трофимчук О. А. , Шевченко И. Г. Фотобиореактор для культивирования хлореллы // Научно-образовательный потенциал молодежи в решении актуальных проблем XXI века. - 2015 - №. 3. - С. 221-223.
10. Официальный сайт компании "БПС". [Электронный ресурс]. Режим доступа: <http://bps-kontakt.ru/index.php/production/miro>, свободный. Дата обращения:21.09.15.