



СОЮЗ СОВЕТСКИХ
СОЦИАЛИСТИЧЕСКИХ
РЕСПУБЛИК

(19) SU (11) 1621823 A1

(51)5 A 01 G 33/00, A 01 H 13/00, C 12 N 1/12

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ
ПО ИЗОБРЕТЕНИЯМ И ОТКРЫТИЯМ
ПРИ ГКНТ СССР

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

К АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ

1

(21) 4392268/13

(22) 15.03.88

(46) 23.01.91. Бюл. № 3

(71) Кишиневский государственный университет им. В.И.Ленина

(72) В.М.Шаларь и В.М.Могылдя

(53) 636.085:639.64 (088.8)

(56) Малек И., Фенцель Э. Непрерывное культивирование микроорганизмов. - М., 1968, с. 70, 77.

(54) СПОСОБ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ

(57) Изобретение относится к биотехнологии и может быть использовано для производства биомассы микроводорослей. Целью изобретения является увеличение выхода биомассы и улучшение ее качества. Способ заключается в том, что при культивировании микроводорослей на питательной среде,

2

приготовленной на основе сточных вод животноводческих комплексов, после инокулирования среды осуществляют выращивание в суспензионной культуре в накопительном режиме в условиях перемешивания и освещения до максимального прироста биомассы. Процесс культивирования проводят в две стадии. На первой стадии культивирование осуществляют до достижения рН в суспензионной культуре 9,4-9,6 и последующего культивирования в течение 12-24 ч при данном значении рН, после чего отстаивают суспензию для формирования коллоидно-бактериального осадка (КБО), удаляют образовавшийся осадок и проводят вторую стадию культивирования до максимального прироста биомассы. Способ позволяет увеличить выход биомассы на 40-60% и значительно улучшить ее качество по сравнению с известным способом. 1 табл.

Изобретение относится к управляемому биосинтезу и может быть использовано для производства биомассы микроводорослей.

Цель изобретения - увеличение выхода биомассы и улучшение ее качества.

Способ заключается в том, что при культивировании микроводорослей осуществляют приготовление питательной среды на основе сточных вод животноводческих комплексов, в которую вносят микроводоросли, затем культивируют их в суспензионной культуре в накопительном режиме в условиях перемешивания и освещения до максимального прироста биомассы. Процесс культивирования проводят в две стадии. На первой стадии культивирование осуществляют до достижения рН в суспензионной

культуре 9,4-9,6 и последующего культивирования в течение 12-24 ч при данном значении рН, после чего отстаивают суспензионную культуру для формирования коллоидно-бактериального осадка (КБО), удаляют образовавшийся осадок и проводят вторую стадию культивирования до максимального прироста биомассы.

Пример 1. (по известному способу). В круглый аквариум высотой 20 см с питательной средой, приготовленной на основе сточных вод животноводческих комплексов в объеме 2 л, содержащей, мг/л: органические вещества по химическому потреблению кислорода (ХПК) 200 мг O₂/л, общий азот 223,0 мг/л, общий фосфор 43,0 мг/л, гидрокарбонат-ионов 1718,2 мг/л,

(19) SU (11) 1621823 A1

ионов кальция 178,0 мг/л, pH 8,2, вносят синезеленую микроводоросль *Synechocystis salina* Wisl B-141 из расчета 25,0 млн кл/мл с биомассой 0,30 г/л а.с.в. Культивирование проводят при круглосуточном освещении в 9–10 тыс. лк с постоянным перемешиванием на магнитной мешалке при 26–28°C. На 5-е сутки культура выходит на "плато" с численностью клеток 233 млн кл/мл и биомассой 2,98 г/л а.с.в.

Пример 2. Условия те же, что и в примере 1, но при достижении pH культуры 9,4 перемешивание прекращают, отстаивают коллоидно-бактериальный осадок в течение 15 мин и удаляют его сифонированием. Время отстаивания рассчитывают по формуле $t = h/0,2$, где t – время полного оседания коллоидно-бактериальных частиц, с; h – высота емкости с суспензией водорослей, см; 0,2 – экспериментально установленная средняя скорость оседания коллоидно-бактериальных частиц, мм/с. Далее культивирование водорослей продолжают в том же режиме. На 5-е сутки их численность составляет 256 млн кл/мл с биомассой 3,28 г/л а.с.в.

Пример 3. Условия те же, что в примере 2, но отделение коллоидно-бактериального осадка проводят спустя 12 ч после достижения культуры pH 9,4. На 5-е сутки культивирования численность клеток достигает 302 млн кл/мл с биомассой 3,86 г/л а.с.в.

Пример 4. Условия те же, что в примере 2, но отделение коллоидно-бактериального осадка проводят спустя 24 ч после достижения культуры pH 9,4, т.е. в момент прекращения образования осадка, и культивирование продолжают. На 5-е сутки численность клеток достигает 328 млн кл/мл с биомассой 4,19 г/л а.с.в.

Пример 5. Условия те же, что в примере 2, но отделение осадка проводят спустя 48 ч после достижения культуры pH 9,4. На 5-е сутки культивирования численность клеток водорослей составляет 286 млн кл/мл с биомассой 3,66 г/л а.с.в.

Пример 6. Условия те же, что в примере 1, однако, для культивирования используют зеленую водоросль *Chlorella vulgaris* beyjer A-1 с инокулятом 0,3 г/л а.с.в. На 5-е сутки биомасса водорослей достигает 1,81 г/л а.с.в.

Пример 7. Условия те же, что в примере 6, но образовавшийся коллоидно-бактериальный осадок отделяют спустя 12 ч после достижения культуры pH 9,6. На 5-е сутки биомасса водорослей достигает 2,21 г/л а.с.в.

Пример 8. Условия те же, что в примере 6, но образовавшийся коллоидно-бактериальный осадок отделяют спустя 24 ч после достижения культуры pH 9,6. На 5-е сутки биомасса водорослей достигает 2,49 г/л а.с.в.

Пример 9. Условия те же, что и в примере 6, но образовавшийся коллоидно-бактериальный осадок отделяют спустя 48 ч после достижения культуры pH 9,6. На 5-е сутки биомасса водорослей достигает 1,92 г/л а.с.в.

Сравнительные данные роста водорослей по дням согласно условиям, приведенных в примерах 1–9, отражены в таблице.

Таким образом отделение и удаление коллоидно-бактериального осадка на первой стадии культивирования обеспечивает значительное ускорение прироста биомассы водорослей на второй стадии культивирования. Так, при выращивании синезеленой водоросли *Synechocystis salina* без отделения КБО на первой стадии, ее биомасса за 5 сут составляет 2,98 г/л а.с.в., тогда как при полном отделении образовавшегося осадка (пример 4) биомасса данной водоросли на 5-е сутки достигает 4,19 г/л а.с.в., т.е. выход биомассы увеличивается на 40,6%. Использование данного приема при культивировании *Chlorella vulgaris* (пример 8) позволяет увеличить ее урожайность на 37,6% по сравнению с известным способом культивирования. Кроме того, удаление коллоидно-бактериального осадка приводит к улучшению качества биомассы. Если при культивировании *Synechocystis salina* и *Chlorella vulgaris* не осуществлять отделения и удаления коллоидно-бактериального осадка, в конечном продукте содержание сырого белка составляет 39,2–37,8%, при отделении КБО на первом этапе культивирования содержание белка увеличивается до 54,6 и 48,2% соответственно.

Пример 10 (в полупроизводственных условиях). Микроводоросли выращивают в двух культиваторах лоткового типа (площадью 4,2 м²) с циркуляционным перемешиванием на питательной среде из экстракта утиного помета, содержащей, мг/л: органические вещества по ХПК 1500 мг О₂/л; общий азот 369,0 мг/л; общий фосфор 68,4 мг/л; гидрокарбонат-ионов 2650,0 мг/л; ионов кальция 287,4 мг/л, pH 7,8, которую инокулируют синезеленой водорослью *Synechocystis salina* из расчета 0,3 г/л а.с.в. В первом культиваторе водоросли выращивают без отделения коллоидно-бактериального осадка. Культура достигает стационарной фазы на 4–6-е сутки с содержанием биомассы на 5-е сутки 2,43 г/л а.с.в.

Во втором культиваторе, спустя 24 ч после достижения культуральной жидкости pH 9,4 (конец вторых суток), перемешивание прекращают, коллоидно-бактериальный осадок отделяют и удаляют и далее культивирование водорослей продолжают до выхода культуры на "плато". На 5-е сутки биомасса достигает 3,91 г/л а.с.в.

Таким образом, в результате отделения на первой стадии культивирования коллоидно-бактериального осадка удается увеличить биомассу водорослей на 60,9%. Кроме того, достигается значительное улучшение качества полученного продукта. При культивировании *Synechocystis salina* без отделения КБО (известный способ) содержание сырого белка в суммарном продукте составляет 38,0%, зольность 32,0%, тогда как при отделении КБО в готовом продукте на долю сырого белка приходится 53,8%, зольность при этом снижается до 8,3%.

Формула изобретения

Способ культивирования микроводорослей, предусматривающий приготовление питательной среды на основе сточных вод животноводческих комплексов, инокулирование микроводорослями с последующим их культивированием в суспензионной культуре в накопительном режиме в условиях перемешивания и освещения до максимального прироста биомассы, отличающийся тем, что, с целью увеличения выхода биомассы и улучшения ее качества, культивирование проводят в две стадии, при этом на первой стадии культивирование осуществляют до достижения pH в суспензионной культуре 9,4–9,6 и последующего культивирования в течение 12–24 ч при данном значении pH, после чего отстаивают суспензионную культуру для формирования коллоидально-бактериального осадка, удаляют образовавшийся осадок и проводят вторую стадию культивирования.

Условия культивирования по примерам	Изменение концентрации биомассы в течение 5 сут., г/л а.с.в.					
	Исходная	1	2	3	4	5
<i>Synechocystis salina</i> Wisl B-141						
1 (известный способ)	0,30	0,64	1,72	2,53	2,88	2,98
2	0,30	0,64	1,88	2,71	2,96	3,28
3	0,30	0,64	1,96	3,02	3,62	3,86
4	0,30	0,64	1,72	3,23	3,98	4,19
5	0,30	0,64	1,72	2,53	3,06	3,66
<i>Chlorella vulgaris</i> Beijer A-1						
6 (известный способ)	0,30	0,41	0,65	1,11	1,61	1,81
7	0,30	0,41	0,72	1,26	1,89	2,21
8	0,30	0,41	0,65	1,31	2,35	2,49
9	0,30	0,41	0,65	1,11	1,83	1,92

Редактор Н. Тулица

Составитель Р. Андреева

Техред М.Моргентал

Корректор М. Шароши

Заказ 60

Тираж

Подписное

ВНИИПИ Государственного комитета по изобретениям и открытиям при ГКНТ СССР
113035, Москва, Ж-35, Раушская наб., 4/5

Производственно-издательский комбинат "Патент", г. Ужгород, ул. Гагарина, 101