



СОЮЗ СОВЕТСКИХ
СОЦИАЛИСТИЧЕСКИХ
РЕСПУБЛИК

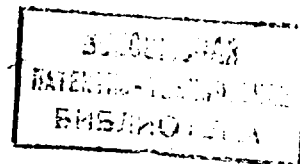
(19) SU (11) 1703682 A1

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ
ПО ИЗОБРЕТЕНИЯМ И ОТКРЫТИЯМ
ПРИ ГКНТ СССР

(51)5 C 12 N 1/12

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

К АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ



1

(21) 4677510/13
(22) 20.02.89
(46) 07.01.92. Бюл. № 1
(71) Институт гидробиологии АН УССР
(72) В.Д.Романенко, Л.А.Сиренко, В.Н.Козицкая и Ю.Г.Крот
(53) 636.085:639.64 (088.8)
(56) Авторское свидетельство СССР № 1034663, кл. А 01 G 31/00, 1982.
Музафаров А.М. Васигов Т.В. Культивирование и применение микроводорослей в народном хозяйстве. Ташкент: ФАН, 1977. с. 95-97.

(54) СПОСОБ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ

Изобретение относится к способам культивирования микроводорослей, используемых в качестве добавок в корма животных, птиц, в сельском хозяйстве и в рыбноводстве для получения дополнительного количества белково-витаминных продуктов и живых кормов.

Известна питательная среда для культивирования микроводорослей, содержащая калий кислый фосфорнокислый, магний сернокислый, аммоний углекислый, натрий хлористый и бурый сок - отход переработки люцерны на корм, использование которой повышает скорость роста и выход биомассы микроводорослей.

Недостатком известного решения является необходимость применения специальных питательных сред, которые готовятся из химических компонентов, имеющих высокую стоимость. Кроме того, не являясь химически чистыми соединениями, они вносят в

2

(57) Изобретение относится к культивированию микроводорослей в качестве добавки в корм птицам, рыбам и пр. с/х животным. Целью изобретения является упрощение способа. Способ заключается в том, что при культивировании микроводорослей в качестве питательной среды используют отход рыбноводного производства в виде воды из рециркуляционной системы. Упрощение способа осуществляется за счет исключения трудоемких процессов приготовления питательных сред из отходов производства (разделение, нейтрализация, разбавление и пр.). При этом способ обеспечивает выход биомассы, сопоставимый с выходами биомассы микроводорослей, культивируемых на минеральных питательных средах. 3 табл.

питательную среду чужеродные элементы. Поскольку указанные компоненты питательной среды аккумулируются клетками и накапливаются в пределах, превышающих предельно допустимые концентрации (ПДК) для пищевого и кормового использования биомассы, возникает необходимость их отделения от клеток путем сепарации, а также последующей отмывки. Кроме того, наряду с набором минеральных соединений, известная питательная среда содержит экстракт люцерны. Добавление последнего в среду вызывает усиленный рост бактериофлоры, что приводит к загрязнению биомассы водорослей за счет дополнительного обсеменения бактериями и грибами, т.е. ухудшает ее качество как возможного кормового продукта.

Наиболее близким к предлагаемому техническим решением является способ выращивания микроводорослей на сточных

(19) SU (11) 1703682 A1

водах с сельскохозяйственного производства (птицефабрик, животноводческих комплексов).

Недостатками способа является необходимость предварительной обработки этих вод и неудовлетворительное качество целевого продукта, требующего дополнительной комплексной обработки.

Многие стоки сельскохозяйственных комплексов в связи с содержанием токсических соединений метаболической природы являются экстремальными для микроводорослей и тормозят их рост. В частности, сточные воды свиноводческих комплексов не могут непосредственно использоваться для культивирования микроводорослей, а требуют дополнительного разведения (в 10–100 раз), осветления и другой обработки, т.е. имеют зловонный запах, значительное бактериологическое загрязнение, высокую концентрацию солей, аммиака. Сточные воды ферм крупного рогатого скота в ряде случаев лишены отдельных указанных недостатков (например, не содержат столь высокого количества солей – натрия хлористого), но требуют дополнительного внесения отдельных биогенных элементов (фосфора).

Получаемая на указанных отходах биомасса водорослей во многих случаях имеет неудовлетворительное качество из-за бактериального загрязнения, запахов. Для предотвращения указанных отрицательных последствий при использовании натуральной биомассы микроводорослей, выращенных на сточных водах, ее необходимо подвергать комплексной обработке.

Цель изобретения – упрощение способа.

Способ заключается в том, что воду из рециркуляционной системы рыбоводного производства подают в фотореактор, засевают микроводорослями и культивируют при освещении 10000 лк и температуре 30–35°C.

Вода рециркуляционной системы (в.р.с.), содержащая продукты жизнедеятельности гидробионтов, представляет собой речную воду, используемую длительное время в замкнутой системе для выращивания рыбы. Состав воды из рециркуляционной системы и ее гидрохимические показатели при температурном режиме 23–28°C и pH 6,5–7,5 следующие.

Концентрация веществ в воде рыбоводных емкостей, мг/л: O₂ 10–15; NH₄ 4–6; NO₂ 0,3–0,5; NO₃ 100–120; Fe_{общ} 0–0,1; Ca²⁺ 49–70; Mg²⁺ 24–32; Cl[–] 40–60; PO₄^{3–} 4,0–8,5.

Количество органических загрязнений, выделяемых 1 т рыбы, кг/сут: NH₄

1–4; БПК₅ (биологическая потребность кислорода в течение 5 сут) 3–13.

Вода рыбоводных комплексов, используемая для культивирования водорослей, требует дополнительной обработки, стимулирует дополнительный рост микроорганизмов, не свойственных гидробионтам, в том числе и микроводорослям. Ресурсы микроводорослей на рыбоводных стоках происходит за счет утилизации азота (аммонийного) и нитратов, фосфора, углерода и других элементов, попадающих в рециркуляционную воду из продуктов жизнедеятельности растущих в ней водных организмов.

В воде рециркуляционной системы в результате накопления метаболитов рыбы при высоком содержании растворенного органического вещества по ХПК, БПК₅ повышается из-за их высокого бактериального эффекта. Поэтому ХПК колеблется в пределах 90–150 мг/л и выше при низких величинах БПК. В большом количестве в воде содержатся углеводы, аминокислоты, другие вещества, легко усваиваемые клетками водорослей. Например, содержание аминокислот достигало 1–2 мг/л, а учитывая миксотрофность используемых водорослей, растворенные в воде вещества являются дополнительным источником биогенных элементов.

Продукты жизнедеятельности рыбы стимулируют, с одной стороны, ростостимулирующей активностью, с другой стороны, благодаря присущему водорослям миксотрофизму при наличии растворенных органических веществ рост водорослей усиливается в 4–6 раз.

Вода из рециркуляционной системы рыбоводного производства, по сравнению со стоками сельскохозяйственного производства не обладает неприятным запахом, интенсивной окраской и практически не содержит патогенной микрофлоры. Это дает возможность получать биомассу значительно лучшего качества, которую можно использовать сразу в качестве живого корма для гидробионтов.

Объект культивирования – два штамма хлореллы (*Chlorella vulgaris* Beijerinck – прототипный штамм и *Chlorella vulgaris* Beijerinck – штамм ЛАРГ-3), сценедесмус и анкистродесмус (*Scenedesmus obliquus*, Ankistrodesmus fusiformis).

Указанные виды организмов относятся к зеленым водорослям.

Использовались также синезеленые водоросли – микроцистис и спирулина (*Microcystis aeruginosa*, *Spirulina platensis*).

П р и м е р 1. Объект выращивания – зеленая водоросль *Chlorella vulgaris* (штамм ЛАРГ-3). В контрольном варианте культуру водоросли хлореллы выращивали на классической минеральной питательной среде Тамия следующего состава, г/л: мочевины 3.0; $MgSO_4$ 2.5; KH_2PO_4 1.25; $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.003; ЭДТА 0.037, а также микроэлементы 1 мл.

Раствор микроэлементов, г/л: H_3BO_3 2.860; $MnCl_2 \cdot 4H_2O$ 1.81; $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.222; а также MoO_3 176.4 мг/10 л, NH_4VO_3 229.6 мг/10 л.

В опытном варианте в качестве питательной среды использовалась вода из рециркуляционной системы для выращивания рыбы.

Культивирование хлореллы проводили в плоскостенном фотореакторе при температуре 30–35°C и освещенности 8–10 тыс. лк при постоянной продувке через суспензию водорослей газовой воздушной смесью, содержащей до 3% CO_2 . Длительность эксперимента 5–7 сут.

После заполнения соответствующих камер фотореактора минеральной питательной средой (контроль) и водой из рециркуляционной системы в обе камеры (опытную и контрольную) инокулировали маточную культуру микроводоросли хлорелла и отбирали исходные образцы для контроля. Контролировались следующие параметры: численность клеток, биомасса, и физиологическое состояние культуры. Учет численности микроводорослей проводили с помощью камеры Горяева под микроскопом. Биомассу (а.с.в.) определяли стандартным весовым методом. О физиологическом состоянии культуры судили по соотношению живых и мертвых клеток, определяемому с помощью люминесцентной микроскопии.

Как свидетельствуют данные табл. 1, наиболее интенсивное увеличение биомассы хлореллы наблюдалось в опытном варианте, т.е. на воде из рециркуляционной системы.

В опытном варианте (на воде из рециркуляционной системы) выход биомассы (а.с.в.) хлореллы за 5 сут эксперимента составлял 246% от исходной биомассы (принята за 100%), тогда как в контрольном варианте (на минеральной питательной среде) этот прирост составил соответственно 150%.

Физиологическое состояние культуры также было лучшим в опытном варианте, т.е. процент живых клеток выше.

Таким образом, интенсивность развития микроводорослей по предложенному способу выше, чем при культивировании на стандартной минеральной питательной среде (Тамия).

Сравнение результатов роста водорослей, полученных по известному способу (в среднем 0,7–1,0 г/л сухого вещества) и по предложенному способу (0,85–1,04 г/л сухого вещества) показывает, что по предложенному способу прирост биомассы водорослей не ниже, а иногда и выше, чем по известному.

П р и м е р 2. Условия культивирования, аналогичные описанным в примере 1. Объект культивирования – зеленые микроводоросли *An Kistrodesmus fusiformis*. Полученные данные сведены в табл. 2.

П р и м е р 3. Для культивирования использовали синезеленые водоросли *Microcystis aeruginosa*. Результаты приведены в табл. 3. Контроль выращивали на минеральной среде Фитцджеральда (источник по примеру 1).

Прирост другого представителя синезеленых водорослей *Spirulina plateusis* за сутки составлял на минеральной питательной среде 0,06–0,07 г/л, а на воде рециркуляционной системы – 0,05 – 0,10 г/л, т.е. был не ниже, чем в контроле (на минеральной питательной среде).

Однако, более охотное потребление хлореллы некоторыми гидробионтами (коловратками, моинами), являющимися живым кормом для мальков рыбы, сыграло определяющую роль в ее культивировании и последующем использовании.

Предлагаемый способ позволяет за счет биогенных элементов и органического вещества, накапливаемых в рециркуляционной системе при выращивании рыбы, получать биомассу микроводорослей, являющуюся ценным кормовым продуктом для других гидробионтов – живых кормов (коловратки, дафнии, инфузории и др.), и молоди рыб. Получаемый живой корм не требует дополнительной обработки, что упрощает его технологическое использование. Кроме того, вода после отделения биомассы водорослей может повторно использоваться в рециркуляционных системах.

Упрощение предлагаемого способа осуществляется за счет исключения трудоемкого процесса приготовления питательных сред, последующей сепарации и отмывки получаемой биомассы от механических и бактериальных примесей, содержащихся в жидких отходах.

Ф о р м у л а и з о б р е т е н и я

Способ культивирования микроводорослей на отходах производства, отличающийся тем, что, с целью упрощения способа, из отходов производства используют отходы рыбного производства в виде воды из рециркуляционной системы.

Таблица 1

День роста	Концентрация биомассы			
	Контроль (среда Тамия)		Опыт в.р.с.	
	г/л	Процент от исходного	г/л	Процент от исходного
Исходное	0.565±0.04	100	0.425±0.0	100
2	0.350±0.05	61.9	0.540±0.02	127.0
5	1.630±0.01	293.8	2.175±0.05	511.7
Среднее	0.848±0.03	150.0	1.046±0.02	246.0

Таблица 2

День роста	Прирост биомассы, г/л	
	Контроль (среда Тамия)	Опыт в.р.с.
Исходное	0.11±0.003	0.11±0.003
5	0.15±0.010	0.18±0.024
10	0.19±0.0	0.25±0.018
15	0.25±0.009	0.32±0.020

Таблица 3

День роста	Биомасса, г/л	
	Контроль (питательная среда)	Опыт в.р.с.
Исходное	0.027±0.001	0.027±0.001
2	0.030±0.003	0.035±0
4	0.033±0.001	0.050±0
8	0.048±0.001	0.055±0.003
15	0.085±0.002	0.108±0.004

Редактор Л. Гратилло Составитель Р. Андреева
 Техред М.Моргентал Корректор Т. Малец

Заказ 40 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