



СОЮЗ СОВЕТСКИХ
СОЦИАЛИСТИЧЕСКИХ
РЕСПУБЛИК

(19) **SU** (11) **1806184 A3**

(51) **С 12 N 1/12**

ГОСУДАРСТВЕННОЕ ПАТЕНТНОЕ
ВЕДОМСТВО СССР
(ГОСПАТЕНТ СССР)

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

К ПАТЕНТУ



1

- (21) 4867592/13
(22) 19.09.90
(46) 30.03.93. Бюл. № 12
(71) Институт физиологии растений им.
К.А.Тимирязева
(72) Л.Н.Цоглин, В.Е.Семенов и И.П.Мас-
лова
(73) Институт физиологии растений РАН
(56) Владимирова М.Г., Семенов В.Е. Ин-
тенсивная светокультура одноклеточных во-
дорослей. М., 1962.

Авторское свидетельство СССР
№ 1555354, кл. С 12 N 1/12, 1990.

2

(54) СПОСОБ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ МИК- РОВОДОРОСЛЕЙ

(57) Использование: биотехнология, получе-
ние биомассы микроводорослей. Сущность
изобретения: готовят питательную среду,
содержащую азотнокислый калий или на-
трий, меченый изотопом ^{15}N , в concentra-
ции 1,5–2,0 г/л и другие соли, необходимые
для роста водорослей, среду засевают водо-
рослями, такими как *Chlorella* sp., *Spirulina*
platensis, с плотностью 30–50 мг/л по сухо-
му весу и культивируют при освещении 250–
300 Вт/м² до прекращения прироста
биомассы. Способ позволяет получить био-
массу с равномерно распределенными азотсодержащими
соединениями.

Изобретение относится к биотехнологи-
и, в частности к способам культивирова-
ния микроводорослей, и может быть
использовано для получения биомассы, ме-
ченной стабильными изотопами, применяе-
мой для изучения пространственной
структуры природных молекул, их информа-
ционных превращений, функциональных
взаимодействий и в медицинской диагно-
стике.

Цель изобретения – получение меченых
азотсодержащих соединений в биомассе
микроводорослей.

Это достигается новым способом куль-
тивирования микроводорослей, предусма-
тривающем засев микроводорослей на
питательной среде, содержащей изотопы,
культивирование их при барботировании га-
зовоздушной смесью и освещении, причем
в качестве изотопов используют изотоп ^{15}N
в виде азотнокислого натрия или калия в

концентрации 1,5–2,0 г/л, засев среды осу-
ществляют с плотностью 30–50 мг/л по сухо-
му весу, освещение с интенсивностью
200–300 Вт/м², а культивирование до пре-
кращения прироста биомассы.

Повторное засевание ведут выращен-
ной биомассой на свежей питательной сре-
де.

Пример 1. Культуру микроводоросли
Chlorella sp К из коллекции ИФР АН СССР,
в количестве 30 мг/л по сухому весу засева-
ют на питательную среду следующего соста-
ва (г/л): K^{15}NO_3 –2,0; $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ –2,5;
 KH_2PO_4 –1,25; $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ –0,009; EDTA –
0,037; раствор микроэлементов 1 мл. Выра-
щивание микроводоросли проводят при 36°C
с интенсивностью освещения 250 Вт/м²
круглосуточно при непрерывном барботи-
ровании воздушной смесью до прекраще-
ния прироста биомассы. Концентрация
изотопа азота в культуральной среде равна

(19) **SU** (11) **1806184 A3**

13 мг/л. Полученную биомассу исследуют: белок – 44%, свободные аминокислоты – 8,7%; нуклеиновые кислоты – 1,1%; пигменты – 3,2%; липиды – 16%; углеводы – 30%.

Пример 2. Культуру микроводоросли *Chlorella C-9*, из коллекции ИФР АН СССР, в количестве 40 мг/л по сухому весу засеивают на питательную среду следующего состава (г/л): $K^{15}NO_3$ – 2,0; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 2,25; KH_2PO_4 – 0,63; $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,005; EDTA – 0,037; раствор микроэлементов 1 мл. Выращивание микроводоросли проводят при 36°C с интенсивностью освещения 300 Вт/м² круглосуточно при непрерывном барботировании газовой смеси (2% CO₂) до прекращения прироста биомассы. Концентрация изотопа азота в культуральной среде равна 21 мг/л. Полученную биомассу исследуют: белок – 48%; свободные аминокислоты – 5,2%; нуклеиновые кислоты – 1,5%; пигменты – 1,5%; липиды – 18%; углеводы – 25,8%.

Пример 3. Культуру микроводоросли *Spyrulina platensis* из коллекции ИФР АН СССР в количестве 50 мг/л по сухому весу засеивают на питательную среду следующего состава (г/л): $Na^{15}NO_3$ – 1,8; $NaHCO_4$ – 16,8; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,2; K_2HPO_4 – 0,5; K_2SO_4 – 1,0; $NaCl$ – 1,0; $CaCl_2$ – 0,04; $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,01; EDTA – 0,08; раствор микроэлементов 1 мл. Выращивание микроводоросли проводят при 31°C с интенсивностью освещения 250 Вт/м² круглосуточно при непрерывном барботировании газовой смеси до прекращения прироста биомассы. Концентрация изотопа азота в культуральной среде равна 28 мг/л. Полученную биомассу исследуют: белок – 63%, свободные аминокислоты – 4,4%; нуклеиновые кислоты – 1,1%; пигменты – 2,5%; липиды – 10%; углеводы – 12%.

Пример 4. Культуру микроводоросли *Spyrulina minima* из коллекции ИФР АН СССР в количестве 40 мг/л по сухому весу засеивают на питательную среду следующего состава (г/л): $Na^{15}NO_3$ – 1,8; $NaHCO_4$ – 6,0; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,2; K_2HPO_4 – 0,5; K_2SO_4 – 0,5; $NaCl$ – 1,0; $CaCl_2$ – 0,04; $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,01; EDTA – 0,08; раствор микроэлементов 1 мл. Выращивание микроводоросли проводят при 26°C с интенсивностью освещения 200 Вт/м² круглосуточно при непрерывном барботировании газовой смеси до пре-

кращения прироста биомассы. Концентрация изотопа азота в культуральной среде равна 22 мг/л. Полученную биомассу исследуют: белок – 52%, свободные аминокислоты – 9,4%; нуклеиновые кислоты – 2,0%; пигменты – 3,0%; липиды – 15,6%; углеводы – 18%.

Пример 5. Культуру микроводоросли *Chlorella sp K*, полученную по примеру 1, в количестве 500 мг/л по сухому весу засеивают на питательную среду следующего состава (г/л): $K^{15}NO_3$ – 2,0; $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ – 2,5; KH_2PO_4 – 1,25; $FeSO_4 \cdot 7H_2O$ – 0,009; EDTA – 0,037; раствор микроэлементов 1 мл. Выращивание микроводоросли проводят при 36°C с интенсивностью освещения 250 Вт/м² круглосуточно при непрерывном барботировании газовой смеси до прекращения прироста биомассы. Полученную биомассу исследуют: белок – 44%; свободные аминокислоты – 8,7%; нуклеиновые кислоты – 1,1%; пигменты 3,2%; липиды – 16%; углеводы – 30%.

Результаты примеров 1–4 свидетельствуют о том, что заявляемый способ культивирования микроводорослей позволяет получить биомассу микроводорослей, содержащую меченые азотсодержащие соединения. Потери изотопа азота не превышают 1,4%.

Пример 5 доказывает возможность использования клеток микроводорослей, содержащих меченые азотсодержащие соединения, в качестве инокулята для повторных засевов на среду, содержащую изотоп азота.

Формула изобретения

Способ культивирования микроводорослей, предусматривающий посев микроводорослей на питательную среду, содержащую изотопы, культивирование их при барботировании газовой смеси и освещении, отличающийся тем, что, с целью получения меченых азотсодержащих соединений в биомассе микроводорослей, из изотопов используют изотопы ^{15}N в виде азотнокислого натрия или калия в концентрации 1,5–2,0 г/л, посев на среду осуществляют с плотностью 30–50 мг/л по сухому весу, освещение – с интенсивностью 200–300 Вт/м², а культивирование – до прекращения прироста биомассы.