



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК

C12N 1/12 (2006.01)

(21)(22) Заявка: 2016121588, 31.05.2016

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
31.05.2016

Дата регистрации:
08.02.2018

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 31.05.2016

(43) Дата публикации заявки: 05.12.2017 Бюл. № 34

(45) Опубликовано: 08.02.2018 Бюл. № 4

Адрес для переписки:

360004, КБР, г. Нальчик, ул. Чернышевского,
173, КБГУ, руководителю Центра поддержки
технологий и инновации (ЦПТИ) Маржоховой
М.Х.

(72) Автор(ы):

Жемухова Олеся Асировна (RU),
Слонов Людин Хачимович (RU),
Слонов Тимур Людинович (RU),
Хандохов Тахир Хамидбиевич (RU),
Козьминов Сергей Генадьевич (RU),
Шерхов Заур Хамидбиевич (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное
образовательное учреждение высшего
образования "Кабардино-Балкарский
государственный университет им. Х.М.
Бербекова" (КБГУ) (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете
о поиске: SU 1373728 A1, 15.02.1988. BY 6970
C1, 30.03.2005. WO 2016/071570 A1, 12.05.2016.

(54) Способ культивирования микроводоросли *Chlorella*

(57) Реферат:

Изобретение относится к биотехнологии. Предложен способ культивирования микроводоросли *Chlorella*. Способ предусматривает культивирование микроводоросли *Chlorella* при 27-29°C, периодическом освещении 3 ч утром и 4 ч вечером импульсным источником света с длительностью импульса 0,00001-0,001 с и длительностью

интервала между импульсами 0,01-0,1, при добавлении минеральной воды со скважины 69 бис железноводского месторождения с содержанием солей 2,5 г/л в среду Тамия при соотношении 1:1, перемешивании круговыми движениями. Способ обеспечивает повышение продуктивности микроводоросли *Chlorella*. 1 ил., 4 пр.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(52) CPC

C12N 1/12 (2006.01)(21)(22) Application: **2016121588, 31.05.2016**(24) Effective date for property rights:
31.05.2016Registration date:
08.02.2018

Priority:

(22) Date of filing: **31.05.2016**(43) Application published: **05.12.2017** Bull. № 34(45) Date of publication: **08.02.2018** Bull. № 4

Mail address:

**360004, KBR, g. Nalchik, ul. Chernyshevskogo, 173,
KBGU, rukovoditelyu Tsentra podderzhki
tekhnologij i innovatsii (TSPTI) Marzhokhovej
M.KH.**

(72) Inventor(s):

**Zhemukhova Olesya Asirovna (RU),
Slonov Lyudin Khachimovich (RU),
Slonov Timur Lyudinovich (RU),
Khandokhov Takhir Khamidbievich (RU),
Kozminov Sergej Genadevich (RU),
Sherkhov Zaur Khamidbievich (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Federalnoe gosudarstvennoe byudzhetnoe
obrazovatelnoe uchrezhdenie vysshego
obrazovaniya "Kabardino-Balkarskij
gosudarstvennyj universitet im. KH.M.
Berbekova" (KBGU) (RU)**

(54) METHOD FOR CHLORELLA MICROALGAE CULTIVATION

(57) Abstract:

FIELD: biotechnology.

SUBSTANCE: method for chlorella microalgae cultivation is proposed. Method envisages Chlorella microalgae cultivation at 27-29°C, periodic lighting for 3 h in the morning and 4 hours in the evening by a pulse light source with pulse duration of 0.00001-0.001 s and duration of the interval between pulses of 0.01-0.1,

adding mineral water from the well 69 bis of the Zheleznovodsk deposit with a salt content of 2.5 g/l at a ratio of 1:1 to Tamia medium, stirring by circular motion.

EFFECT: increased productivity of Chlorella microalgae.

1 dwg, 4 ex

Изобретение относится к области биотехнологии, в частности к способам культивирования микроводоросли *Chlorella*, предназначенная для использования в сельском хозяйстве в качестве корма для сельскохозяйственных животных (КРС, свиньи, птицы, пчелы, рыбы).

- 5 Известны различные способы культивирования штамма микроводоросли *Chlorella*. Например, культивирование микроводоросли солнечным светом (Наукова Думка. Особенности интенсивного культивирования хлореллы в условиях солнечного освещения. Сборник докладов совещания «Роль низших организмов в круговороте веществ в замкнутых экологических системах» Киев, 1979; Глищук Л.П. Аппаратурно-
10 технологическое оформление процесса культивирования цианобактерий *Spirulina*. Автореферат диссертации, М., 2000).

- Известен способ культивирования микроводорослей на основе штамма «*Chlorella vulgaris* Ифр № С-111» (патент РФ №2176667). Способ предусматривает розлив питательной среды в емкости, инокуляцию суспензии штаммом, освещение
15 культуральной жидкости в процессе роста микроводорослей и поддержание необходимой температуры суспензии. Емкости представляют собой сосуды из прозрачного материала и для освещения используют источник искусственного света. Сосуды размещены на расстоянии один от другого на поддоне каркаса вокруг источника света. Последний установлен на каркасе с возможностью вертикального перемещения к поддону.
20 Изобретение обеспечивает интенсификацию процесса выращивания микроводорослей с использованием упомянутого выше штамма и получение стабильной плотности клеток за определенный период времени.

- Недостатком выше приведенных способов культивирования штаммов микроводоросли *Chlorella* является: интенсивное увеличение освещенности штаммов
25 приводит к истощению микроводоросли с последующим уменьшением прироста биомассы.

- Известен способ культивирования микроводоросли и установка для его осуществления (патент РФ №2450049), который заключается в перемешивании и аэрации культуральной жидкости встряхиванием колб-культиваторов путем возвратно-
30 поступательного перемещения, поддержании заданных значений температуры, pH и освещении источником света, согласно изобретению освещение осуществляется импульсным источником света с длительностью импульса 0,00001-0,001 с и длительностью интервала между импульсами 0,01-0,1 с, соответствующими длительностям световой и темновой фаз фотосинтеза для данной микроводоросли.
35 Установка для осуществления способа включает культиваторы в виде ряда сосудов одинаковой геометрической формы с прозрачными днищами, установленных с возможностью возвратно-поступательного перемещения в горизонтальной плоскости (для аэрации и перемешивания) и снабженных источником освещения, в котором согласно изобретению источники освещения выполнены в виде набора светоизлучающих
40 диодов, расположенных непосредственно под прозрачными днищами сосудов и соединенных с источником питания в виде генератора импульсов.

- Недостатком является постоянное освещение культуральной жидкости диодами, что приводит к быстрому истощению клеток микроводоросли и снижению продуктивности.

- 45 Известен также способ получения питательной среды для культивирования лактозосбраживающих дрожжей (патент РФ №2482173). Смешивают водопроводную воду и минеральную воду курорта «Аршан» с минерализацией 4,1 мг/л в соотношении 1:1 с последующим добавлением пекарских дрожжей в количестве 10-12 г/л смеси

водопроводной и минеральной воды и готовят дрожжевой перевар. Полученный дрожжевой перевар фильтруют и стерилизуют и добавляют из расчета на 100 мл дрожжевого перевара пептон в количестве 1% и лактозу 4% соответственно с получением среды. Полученную среду повторно стерилизуют и охлаждают.

5 Недостатком технического решения является трудоемкость осуществление способа.

За прототип принят способ культивирования хлореллы (Авт.св. №1373728).

Изобретение относится к области промышленной микробиологии. Целью изобретения является повышение прироста биомассы хлореллы при одновременном снижении энергозатрат на ее культивирование. Способ состоит в том, что хлореллу выращивают
10 на питательной среде, содержащей минеральные соли и жидкие отходы, образующиеся на картофелеперерабатывающих предприятиях, с содержанием сухих веществ 1-1,5%, при следующем соотношении компонентов, г/л: азотно-кислый калий 0,2-0,5, однозамещенный фосфорно-кислый калий 0,06-0,12, фильтрат жидких отходов, образующихся при варке и бланшировке картофеля, остальное, а культивирование
15 ведут при освещении 4-5 тыс. лк. Способ позволяет получить суспензию хлореллы с плотностью 193,75 млн. клеток/мл (сухая биомасса 4,52 г/л) при освещенности 4-5 тыс. лк.

Недостатком технического решения является отсутствие периода покоя у микроводоросли Хлорелла, вследствие чего интенсивное увеличение освещенности
20 штаммов приводит к гибели микроводоросли.

Задачей изобретения является увеличение продуктивности микроводоросли *Chlorella* путем периодического освещения, т.е. чередованием периодов покоя и активной фазы.

Сущность изобретения заключается в культивировании штамма микроводоросли *Chlorella* при поддержании температуры 27-29°C, pH и освещения источником света,
25 добавлении минеральной воды со скважины 69 бис железноводского месторождения с содержанием солей 2,5 г/л в культуральную жидкость при соотношении 1:1. Согласно изобретению освещение осуществляется импульсным источником света с длительностью импульса 0,00001-0,001 с и длительностью интервала между импульсами 0,01-0,1 с, соответствующими длительностям световой и темновой фаз фотосинтеза для данного
30 фототрофа 3 ч утром и 4 ч вечером. Освещенность 5 тыс. лк. Перемешивание осуществляется круговыми движениями.

Установка для осуществления способа представляет собой культиватор 1, содержащий прозрачный сосуд прямоугольной формы, снабженный источником освещения. Источники освещения выполнены в виде набора светоизлучающих люминесцентных
35 ламп 2, расположенных под днищем сосуда и вокруг него, соединенных с источником питания в виде генератора импульсов, имеется патрубок подачи CO₂ и патрубок выхода CO₂, а также трубка для выхода готовой продукции.

Возможность осуществления изобретения показана следующими примерами.

Пример 1. Эксперимент проводили на установке, схема которой изображена на
40 чертеже. Объектом для исследований была выбрана микроводоросль *Chlorella vulgaris*, культивирование проводили на среде Тамия с добавлением минеральной воды со скважины 69 бис железноводского месторождения с содержанием солей 2,5 г/л в культуральную жидкость при соотношении 1:1 в течение 6 суток при температуре 27-29°C. Ферментацию вели в культиваторе с объемом культуральной жидкости 30 мл.
45 Перемешивание осуществлялось круговыми движениями. Прирост биомассы 5 мл составил 4,22 г/л сухого веса при $187,0 \cdot 10^6$ клеток/мл суспензии, подсчет производили в камере Горяева. Подсветка осуществлялась днищами сосудов и вокруг них. Освещение

осуществлялось импульсным источником света с длительностью импульса 0,00001-0,001 с и длительностью интервала между импульсами 0,01-0,1 с, соответствующими длительностям световой и темновой фаз фотосинтеза 3 ч утром и 4 ч вечером. Освещенность 5 тыс. лк.

- 5 Пример 2. Эксперимент проводили на установке, схема которой изображена на чертеже. Объектом для исследований была выбрана микроводоросль *Chlorella infusionum*, культивирование проводили на среде Тамия с добавлением минеральной воды со скважины 69 бис железноводского месторождения с содержанием солей 2,5 г/л в культуральную жидкость при соотношении 1:1 в течение 6 суток при температуре 29°C.
- 10 Ферментацию вели в культиваторе с объемом культуральной жидкости 27 мл. Перемешивание осуществлялось круговыми движениями.

Прирост биомассы 5 мл составил 4,54 г/л сухого веса при $195,0 \cdot 10^6$ клеток/мл суспензии, подсчет производили в камере Горяева. Подсветка осуществлялась днищами сосудов и вокруг них.

- 15 Пример 3. Эксперимент проводили на установке, схема которой изображена на чертеже. Объектом для исследований была выбрана микроводоросль *Chlorella vulgaris*, культивирование проводили на среде Тамия с добавлением минеральной воды со скважины 69 бис железноводского месторождения с содержанием солей 2,5 г/л в культуральную жидкость при соотношении 1:1 в течение 6 суток при температуре 28°C.
- 20 Ферментацию вели в культиваторе с объемом культуральной жидкости 25 мл. Перемешивание осуществлялось круговыми движениями.

- Прирост биомассы 5 мл составил 4,55 г/л сухого веса при $196,0 \cdot 10^6$ клеток/мл суспензии, подсчет производили в камере Горяева. Подсветка осуществлялась днищами сосудов и вокруг них.
- 25

Освещение осуществлялось импульсным источником света с длительностью импульса 0,00001-0,001 с и длительностью интервала между импульсами 0,01-0,1 с, соответствующими длительностям световой и темновой фаз фотосинтеза 3 ч утром и 4 ч вечером. Освещенность 5 тыс. лк.

- 30 Пример 4. Эксперимент проводили на установке, схема которой изображена на чертеже. Объектом для исследований была выбрана микроводоросль *Chlorella infusionum*, культивирование проводили на среде Тамия с добавлением минеральной воды со скважины 69 бис железноводского месторождения с содержанием солей 2,5 г/л в культуральную жидкость при соотношении 1:1 в течение 6 суток при температуре 29°C.
- 35 Ферментацию вели в культиваторе с объемом культуральной жидкости 30 мл. Перемешивание осуществлялось круговыми движениями. Прирост биомассы 5 мл

- составил 4,59 г/л сухого веса при $199,0 \cdot 10^6$ клеток/мл суспензии, подсчет производили в камере Горяева. Подсветка осуществлялась днищами сосудов и вокруг них. Освещение осуществлялось импульсным источником света с длительностью импульса 0,00001-0,001 с и длительностью интервала между импульсами 0,01-0,1 с, соответствующими длительностям световой и темновой фаз фотосинтеза 3 ч утром и 4 ч вечером. Освещенность 5 тыс. лк.
- 40

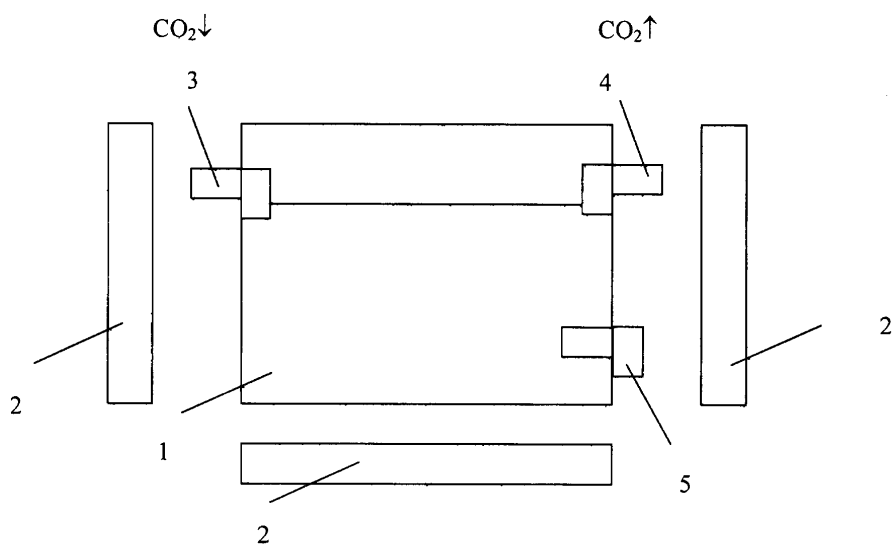
- Освещение осуществлялось импульсным источником света с длительностью импульса 0,00001-0,001 с и длительностью интервала между импульсами 0,01-0,1 с, соответствующими длительностям световой и темновой фаз фотосинтеза 3 ч утром и 4 ч вечером. Освещенность 5 тыс. лк.
- 45

Технический результат заключается в повышении продуктивности микроводоросли *Chlorella*.

(57) Формула изобретения

Способ культивирования микроводоросли *Chlorella*, заключающийся в перемешивании и аэрации культуральной жидкости, поддержании заданных значений температуры и рН, освещении импульсным источником света с длительностью импульса 0,00001-0,001 с и длительностью интервала между импульсами 0,01-0,1 с, отличающийся тем, что температурные границы, при которых происходит развитие микроводоросли *Chlorella*, 27-29°C, освещение периодическое 3 ч утром и 4 ч вечером с добавлением минеральной воды со скважины 69 бис железноводского месторождения с содержанием солей 2,5 г/л в среду Тамия при соотношении 1:1, перемешивание осуществляют круговыми движениями.

Установка для осуществления способа



1. Культиватор
2. Люминесцентные лампы
3. Патрубок подачи CO₂
4. Патрубок выхода CO₂
5. Трубка для выхода готовой продукции