



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 Хамидбиеевич (RU),  
 Козьминов Сергей Генадьевич (RU),  
 Шерхов Заур Хамидбиеевич (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 железнодорожного 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.

C 2  
1 6 4 2 6 1

R U

R U  
2 6 4 4 2 6 1

C 2



(51) Int. Cl.  
*C12N 1/12* (2006.01)  
*C12R 1/89* (2006.01)

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:  
31.05.2016

Registration 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,  
KBU, rukovoditelyu Tsentralnoy podderzhki  
tehnologij i innovatsii (TSPTI) Marzhokhovo  
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" (KBU) (RU)

R U 2 6 4 4 2 6 1 C 2

(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; Глишук 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 производительности.

- 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 железнодорожного 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 CO<sub>2</sub> и патрубок выхода CO<sub>2</sub>, 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 железнодорожного 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 187,0·10<sup>6</sup> 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.

- <sup>5</sup> 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 железнодорожного месторождения с содержанием солей 2,5 г/л в культуральную жидкость при соотношении 1:1 в течение 6 суток при температуре 29°C.
- <sup>10</sup> Ферментацию вели в культиваторе с объемом культуральной жидкости 27 мл. Перемешивание осуществлялось круговыми движениями.

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

- <sup>15</sup> 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 железнодорожного месторождения с содержанием солей 2,5 г/л в культуральную жидкость при соотношении 1:1 в течение 6 суток при температуре 28°C.
- <sup>20</sup> Ферментацию вели в культиваторе с объемом культуральной жидкости 25 мл. Перемешивание осуществлялось круговыми движениями.

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

- <sup>25</sup> 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.

<sup>30</sup> 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 железнодорожного месторождения с содержанием солей 2,5 г/л в культуральную жидкость при соотношении 1:1 в течение 6 суток при температуре 29°C.

- <sup>35</sup> Ферментацию вели в культиваторе с объемом культуральной жидкости 30 мл. Перемешивание осуществлялось круговыми движениями. Прирост биомассы 5 мл составил  $4,59 \text{ г/л}$  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.

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.

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 5 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 10 в среду Тамия при соотношении 1:1, перемешивание осуществляют круговыми движениями.

15

20

25

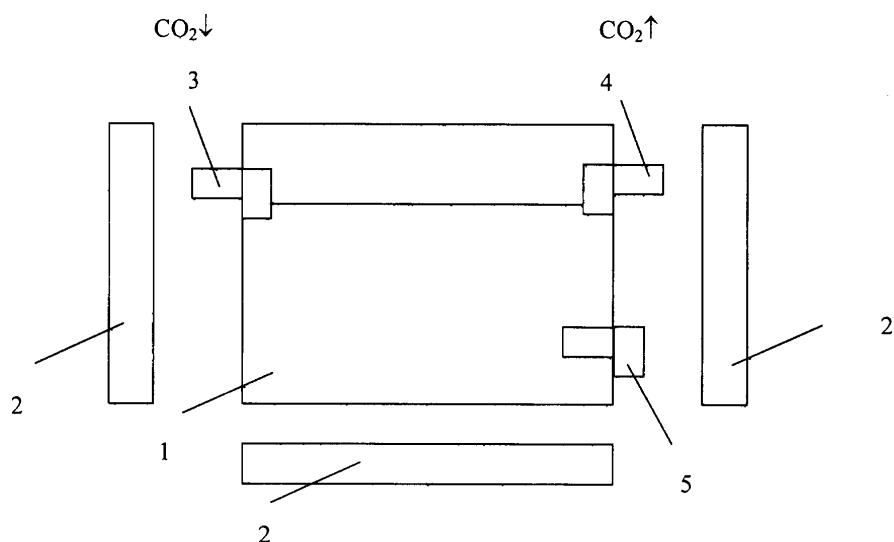
30

35

40

45

## Установка для осуществления способа



1. Культиватор
2. Люминесцентные лампы
3. Патрубок подачи  $\text{CO}_2$
4. Патрубок выхода  $\text{CO}_2$
5. Трубка для выхода готовой продукции