



(51) МПК  
*C12N 1/12* (2006.01)  
*A01G 33/00* (2006.01)  
*C12M 1/02* (2006.01)  
*C12M 1/36* (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

**(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ**

(52) СПК  
*C12N 1/12* (2006.01); *A01G 33/00* (2006.01); *C12M 21/02* (2006.01)

(21)(22) Заявка: 2017142638, 06.12.2017

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
**06.12.2017**

Дата регистрации:  
**26.09.2018**

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 06.12.2017

(45) Опубликовано: 26.09.2018 Бюл. № 27

Адрес для переписки:

195251, Санкт-Петербург, ул. Политехническая,  
29, Центр интеллектуальной собственности  
ФГАОУ ВО "СПбПУ"

(72) Автор(ы):

Политаева Наталья Анатольевна (RU),  
Базарнова Юлия Генриховна (RU),  
Смятская Юлия Александровна (RU),  
Кузнецова Татьяна Алексеевна (RU),  
Трухина Елена Владимировна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

федеральное государственное автономное  
образовательное учреждение высшего  
образования "Санкт-Петербургский  
политехнический университет Петра  
Великого" (ФГАОУ ВО "СПбПУ") (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете  
о поиске: RU 2175013 C2, 20.10.2001. RU  
2176667 C1, 10.12.2001. RU 2558300 C2,  
27.07.2015. НАГОРНОВ С.А.,  
МЕЩЕРЯКОВА Ю.В., Исследование  
условий культивирования микроводоросли  
хлорелла в трубчатом фотобиореакторе //  
Вестник ТГТУ, Том 21, № 4, 2015, стр.653-  
659.

(54) Способ культивирования микроводоросли *Chlorella*

(57) Реферат:

Изобретение относится к области  
культивирования микроводорослей. Предложен  
способ культивирования микроводоросли  
*Chlorella*. Способ включает культивирование  
супензии микроводоросли в фотобиореакторе,  
в котором супензию микроводоросли  
перемешивают в течение 13-17 минут с частотой  
вращения 500 об/мин через каждые 120 минут.  
При этом культивирование осуществляют также

при непрерывной продувке воздухом с помощью  
барботирующего устройства с расходом 1,2-1,8  
л/мин при температуре 26-30°C, непрерывном  
воздействии инфракрасного излучения 10900-  
11300 Лк и при поверхностной освещенности  
2200-2800 Лк с фотопериодом 12 часов.  
Изобретение обеспечивает увеличение прироста  
биомассы при минимальных энергетических  
затратах. 2 ил., 2 табл.

RU 2 668 162 С1

RU 2 668 162 С1



(19) RU (11)

**2 668 162<sup>(13)</sup> C1**

(51) Int. Cl.  
*C12N 1/12* (2006.01)  
*A01G 33/00* (2006.01)  
*C12M 1/02* (2006.01)  
*C12M 1/36* (2006.01)

FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

**(12) ABSTRACT OF INVENTION**

(52) CPC

*C12N 1/12 (2006.01); A01G 33/00 (2006.01); C12M 21/02 (2006.01)*

(21)(22) Application: 2017142638, 06.12.2017

(24) Effective date for property rights:  
06.12.2017Registration date:  
26.09.2018

Priority:

(22) Date of filing: 06.12.2017

(45) Date of publication: 26.09.2018 Bull. № 27

Mail address:  
195251, Sankt-Peterburg, ul. Politekhnicheskaya,  
29, Tsentr intellektualnoj sobstvennosti FGAOU  
VO "SPbPU"

(72) Inventor(s):

Politaeva Natalya Anatolevna (RU),  
Bazarnova Yuliya Genrikhovna (RU),  
Smyatskaya Yuliya Aleksandrovna (RU),  
Kuznetsova Tatyana Alekseevna (RU),  
Trukhina Elena Vladimirovna (RU)

(73) Proprietor(s):

federalnoe gosudarstvennoe avtonomnoe  
obrazovatelnoe uchrezhdenie vysshego  
obrazovaniya "Sankt-Peterburgskij  
politekhnicheskij universitet Petra Velikogo"  
(FGAOU VO "SPbPU") (RU)R U  
2 6 6 8 1 6 2

C 1

**(54) METHOD OF CHLORELLA MICROALGAE CULTIVATION**

(57) Abstract:

FIELD: biotechnology.

SUBSTANCE: invention relates to the cultivation of microalgae. Method of *Chlorella* microalgae cultivation. Method comprises culturing a microalgae suspension in a photobioreactor in which the microalgae suspension is stirred for 13–17 minutes at a rotation speed of 500 rpm every 120 minutes. In this case, the cultivation is also carried out with continuous air

purging by means of a bubbling device at a rate of 1.2–1.8 l/min at a temperature of 26–30 °C, continuous exposure to infrared radiation of 10,900–11,300 LK and with a surface illumination of 2,200–2,800 LK with a photoperiod of 12 hours.

EFFECT: invention provides an increase in biomass growth with minimal energy costs.

1 cl, 2 dwg, 2 tbl

C 1  
2 6 6 8 1 6 2  
R U

Изобретение относится к области культивирования микроводорослей, в частности к способам искусственного культивирования микроводоросли вида Chlorella.

Микроводоросль Chlorella находит широкое применение в медицине, пищевой промышленности, в качестве биодобавки в кормах скоту. На основе микроводоросли Chlorella возможно создание биосорбентов для очистки воды, а также микроводоросль может быть источником биотоплива.

Известен способ по патенту РФ № 2508398, опубл. 27.02.2014 по классам МПК C12N 1/12, C12P 7/64, C12R 1/89, в котором культивирование штамма микроводоросли Chlorella vulgaris Al 123 проводят в лабораторных условиях при температуре 25°C на среде ВВМ pH 6.8 в лимитированных по азоту условиях в течение 7 дней, в объеме среды 200 мл в колбах на 500 мл, при непрерывном барботировании суспензии стерильным воздухом со скоростью 200 мл/мин, при освещенности 120 Вт/м<sup>2</sup> с фотопериодом 16 ч.

Недостатком данного способа является низкий прирост биомассы.

Известен способ культивирования микроводоросли Chlorella, который предусматривает культивирование микроводоросли на жидкой питательной среде в условиях перемешивания и освещения при воздействии импульсного низкочастотного электромагнитного поля с магнитной индукцией 2000 Гс при частоте импульсов 10 Гц и длительностью 10 мкс (см. авт. св. № 1711734, опубл. 15.02.1992 по классам МПК A01G 33/00, C12N 13/00). К недостаткам данного способа можно отнести низкую производительность и высокую энергозатратность.

Наиболее близким аналогом является способ искусственного культивирования микроводорослей и установка для его осуществления по патенту РФ № 2175013, опубл. 10.06.2001 по классам МПК C12N 1/12, A01G 33/00. Культивирование микроводорослей осуществляется путем фотосинтеза при воздействии на них радиолюминесцентного излучения и тепла, возбуждаемого проникающими ядерными излучениями, при этом спектр радиолюминесцентного излучения может быть выбран резонансно совпадающим со спектром действия фотосинтеза. Искусственным источником энергии служит источник проникающих ядерных излучений, источником люминесцентного оптического излучения - радиолюминофор, тепло генерируется в среде источника ядерных излучений. В качестве источника ядерных излучений используется ядерный реактор, в том числе, реактор-размножитель с уран-ториевым циклом, в том числе, в виде решетки из ядерных радиолюминесцентных ламп, которые со всех сторон окружены светоприемными кюветами с суспензией культивируемых микроводорослей.

Недостатками способа по прототипу являются высокие энергозатраты, использование ядерного излучения, применение дорогостоящего компонента, являющегося прекурсором, - радиолюминофора.

Технической задачей заявляемого изобретения является разработка высокопроизводительного, экологически чистого, безопасного способа с использованием компактной высокопроизводительной установки для искусственного культивирования микроводорослей вида Chlorella в лабораторных условиях.

Технический результат – увеличение прироста биомассы при минимальных энергетических затратах.

Технический результат достигается за счет заявляемого способа культивирования микроводоросли Chlorella, заключающегося в том, что суспензию микроводоросли помещают в фотобиореактор, в котором суспензию микроводоросли перемешивают в течение 13-17 минут с частотой вращения 500 об/мин через каждые 120 минут, при этом культивирование проводят при непрерывной продувке воздухом с помощью барботирующего устройства с расходом 1,2-1,8 л/мин при температуре 26-30°C,

непрерывном воздействии инфракрасного излучения 10900-11300 Лк и при поверхности освещенности 2200-2800 Лк с фотопериодом 12 часов.

По сравнению с естественными источниками света искусственные источники могут создавать большую облученность, что способствует увеличению прироста биомассы.

- 5 Инфракрасное облучение воспринимается организмами как тепло и регулирует окислительные процессы в клетке. Температура раствора суспензии поддерживается до величины  $28\pm2^{\circ}\text{C}$  за счет теплового воздействия инфракрасного излучения. Интенсивное барботирование атмосферным воздухом суспензии микроводоросли Chlorella позволяет интенсифицировать процессы ассимиляции  $\text{CO}_2$ , что способствует 10 интенсификации обменных процессов и размножению клеток микроводоросли Chlorella. Перемешивание при культивировании позволяет добиться деления старых клеток и образования новых.

На фиг. 1 схематично изображена установка для культивирования суспензии микроводоросли Chlorella, где 1 – фотобиореактор, 2 - магнитная мешалка, 3 — якорь 15 магнитной мешалки, 4 - насос-аэратор, 5 — трубка подачи воздуха, 6 - инфракрасная лампа, 7 - лампы дневного света.

На фиг. 2 представлена микроскопическая фотография процесса флокуляции микроводоросли Chlorella.

Рост популяции неизбежно связан с образованием осадка клеток водорослей, при 20 этом отмечена флокуляция клеток (фиг. 2), что препятствует интенсивному размножению клеток. Перемешивание позволяет уменьшить интенсивность флокуляции, что способствует сохранению интенсивных обменных процессов в клетках и увеличению скорости размножения микроводоросли Chlorella.

Условия культивирования были подобраны авторами экспериментально.

25 Способ культивирования микроводоросли Chlorella реализуется следующим образом.

Суспензия микроводорослей представляет собой раствор микроводоросли в питательной среде. Состав питательной среды для культивирования микроводоросли Chlorella был подобран экспериментально (таблица 1).

Таблица 1. Состав питательной среды

Наименование вещества	Концентрация, мг/л
ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	100
CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	10
CoSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	100
MnCl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	500
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> ·WF	50
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	100
FeCl <sub>3</sub> ·6H <sub>2</sub> O	4,000
Na <sub>2</sub> EDTA·2H <sub>2</sub> O	6,000
KNO <sub>3</sub>	3,03
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,32
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	2,4

Приготовленную суспензию микроводоросли помещают в фотобиореактор 1 объемом 500 мл. В процессе культивирования осуществляют перемешивание в течение 13-17 45 минут через каждые 120 минут с помощью магнитной мешалки 2 и якоря 3, расположенного на дне фотобиореактора 1. Частота вращения якоря 3 магнитной мешалки 2 при перемешивании составляла 500 об/мин. На протяжении всего периода культивирования суспензию микроводоросли непрерывно продувают атмосферным

воздухом с помощью барботирующего устройства, состоящего из насоса-аэратора 4 и трубы подачи 5 атмосферного воздуха, с расходом 1,2-1,8 л/мин при температуре 26-30°C. Культивирование проводили под непрерывным воздействием инфракрасного (ИК) излучения 10900-11300 Лк, а поверхностная освещенность лампами дневного света (ЛД) составляла 2200-2800 Лк с фотопериодом 12 часов. Для проведения экспериментов была использована лампа с инфракрасным излучением ИКЗК- 250.

В таблице 2 представлены параметры условий культивирования микроводоросли Chlorella и оптическая плотность выращенных образцов.

Таблица 2. Значения основных факторов условий культивирования

№ п/п	Факторы	Образец № 1	Образец № 2	Образец № 3
1	Инфракрасное излучение, Лк	10900	11100	11300
2	Температура, °С	26	28	30
3	Освещенность (ЛД), Лк	2200	2500	2800
4	Время перемешивания, мин	13	15	17
5	Продувка воздухом, л/мин	1,2	1,5	1,8
6	Оптическая плотность на 2-е сутки, Б	0,521	0,580	0,538
7	Оптическая плотность на 7-е сутки, Б	1,491	1,560	1,510

Культивирование микроводоросли Chlorella предпочтительно проводить при значениях рН от 6,0 до 9,0.

Прирост биомассы оценивался по изменению оптической плотности суспензии микроводоросли. Измерение оптической плотности проводилось с помощью спектрофотометра UNICO 1208. Начальная оптическая плотность суспензии микроводоросли составляла 0,200 Б при длине волны 750 нм.

За двое суток оптическая плотность биомассы увеличилась с 0,200 до 0,521 Б при температуре 26°C, а при максимальной температуре, равной 30°C, оптическая плотность увеличилась с 0,200 до 0,538 Б. На седьмые сутки культивирования оптическая плотность выращенной биомассы составила 1,560 при температуре раствора 28°C. При одновременном воздействии инфракрасного излучения выше 11300 Лк и освещенности выше 2800 Лк происходит гибель клеток микроводоросли вследствие увеличения температуры суспензии выше 30°C. При одновременном воздействии инфракрасного излучения ниже 10900 Лк и освещенности ниже 2200 Лк и температуре суспензии ниже 26°C биомасса микроводоросли увеличивается с меньшей скоростью. Суммарная освещенность от 13100 до 14100 Лк обеспечивает максимальную интенсивность фотосинтеза и приводит к образованию хлорофилла. Режим освещенности лампами дневного света с фотопериодом 12 часов позволяет имитировать естественные условия освещенности при культивировании микроводорослей. Отключение освещения в течение последующих 12 часов способствует энергосбережению без существенного снижения прироста биомассы.

Таким образом, заявляемый способ культивирования микроводоросли Chlorella позволяет получить существенный прирост биомассы за 7 дней при изменении оптической плотности от 0,200 до ~1,670 Б.

#### (57) Формула изобретения

Способ культивирования микроводоросли Chlorella, заключающийся в том, что суспензию микроводоросли помещают в фотобиореактор, в котором суспензию микроводоросли перемешивают в течение 13-17 минут с частотой вращения 500 об/мин через каждые 120 минут, при этом культивирование проводят при непрерывной продувке

воздухом с помощью барботирующего устройства с расходом 1,2-1,8 л/мин при температуре 26-30°C, непрерывном воздействии инфракрасного излучения 10900-11300 Лк и при поверхностной освещенности 2200-2800 Лк с фотопериодом 12 часов.

*5*

*10*

*15*

*20*

*25*

*30*

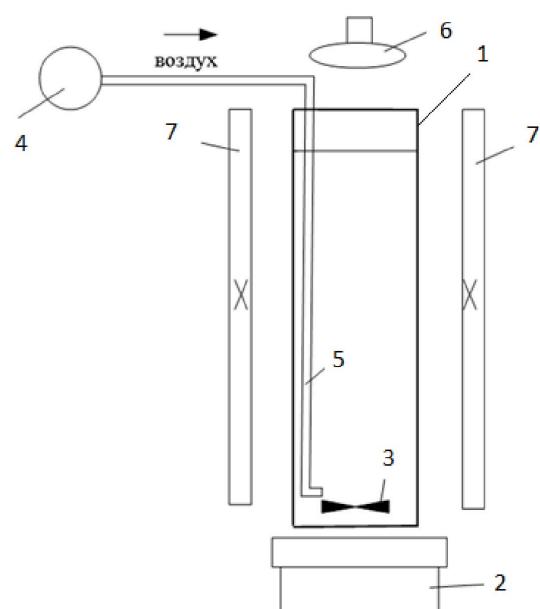
*35*

*40*

*45*

Способ культивирования

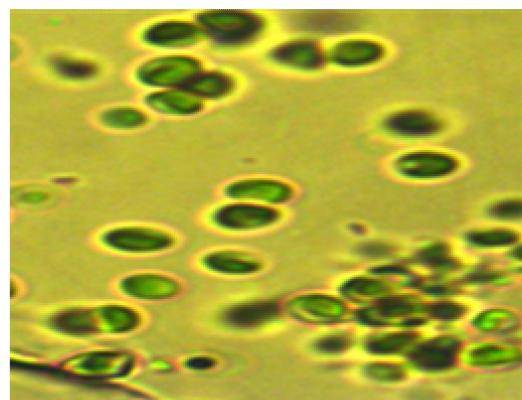
микроводоросли Chlorella



Фиг. 1

Способ культивирования

микроводоросли Chlorella



Фиг. 2