



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, N 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 суспензии микроводоросли в фотобиореакторе, в котором суспензию 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.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.

C12N 1/12 (2006.01)*A01G 33/00* (2006.01)*C12M 1/02* (2006.01)*C12M 1/36* (2006.01)(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. Politekhnikeskaya,
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
politekhnikeskij universitet Petra Velikogo"
(FGAOU VO "SPbPU") (RU)**(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

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, опублик. 27.02.2014 по классам МПК C12N 1/12, C12P 7/64, C12R 1/89, в котором культивирование штамма микроводоросли *Chlorella vulgaris* A1 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/м² 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, опублик. 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, опублик. 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 - радиолуминофор, 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, - радиолуминофора.

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 поверхностной 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 $28 \pm 2^\circ\text{C}$ за счет теплового воздействия инфракрасного излучения. Интенсивное барботирование атмосферным воздухом суспензии микроводоросли *Chlorella* позволяет интенсифицировать процессы ассимиляции 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

30

Наименование вещества	Концентрация, мг/л
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	100
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	10
$\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	100
35 $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	500
$\text{H}_3\text{BO}_3 \cdot \text{WF}$	50
$\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	100
$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	4,000
$\text{Na}_2\text{EDTA} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$	6,000
40 KNO_3	3,03
KH_2PO_4	0,32
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	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 трубки 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 pH 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

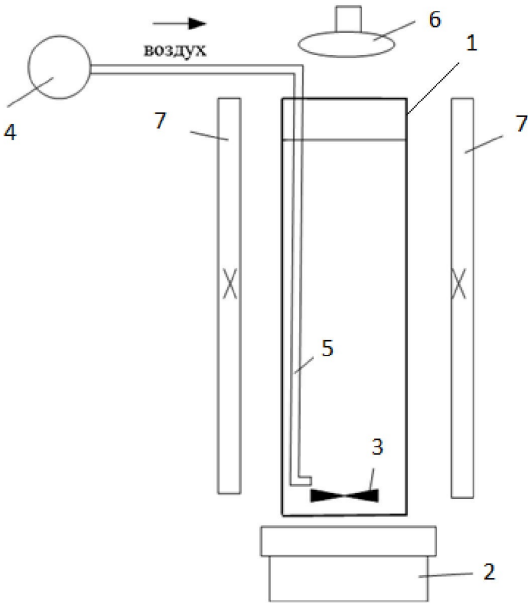
35

40

45

1

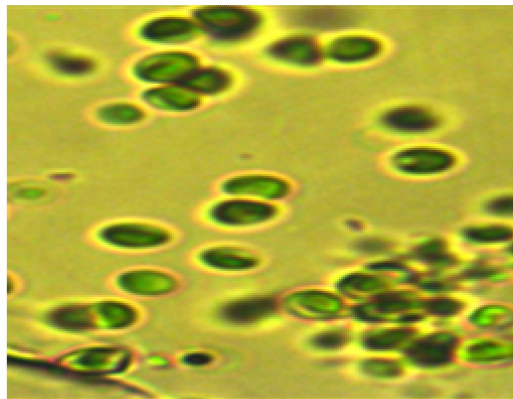
Способ культивирования
микроводоросли Chlorella



Фиг. 1

2

Способ культивирования
микроводоросли *Chlorella*



Фиг. 2