



(51) МПК  
*C12M 1/00* (2006.01)  
*C12M 1/12* (2006.01)  
*C12N 1/00* (2006.01)

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

**(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ**

(52) СПК  
*C12M 1/00* (2020.02); *C12M 1/12* (2020.02); *C12N 1/00* (2020.02)

(21)(22) Заявка: 2019143492, 24.12.2019

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
**24.12.2019**

Дата регистрации:  
**14.09.2020**

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 24.12.2019

(45) Опубликовано: 14.09.2020 Бюл. № 26

Адрес для переписки:

123182, Москва, пл. Академика Курчатова, 1,  
 НИЦ "Курчатовский институт", первому зам.  
 директора - руководителю Аппарата Центра  
 Л.З. Левину

(72) Автор(ы):

Горин Кирилл Викторович (RU),  
 Готовцев Павел Михайлович (RU),  
 Борголов Артём Викторович (RU),  
 Сергеева Яна Эдуардовна (RU),  
 Родионов Дмитрий Николаевич (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное  
 учреждение "Национальный  
 исследовательский центр "Курчатовский  
 институт" (RU)

(56) Список документов, цитированных в отчете  
 о поиске: RU 2550266 C2, 10.05.2015.

МАЛЬЦЕВСКАЯ Н.В. Энергосберегающие  
 режимы освещения при культивировании  
 светозависимых микроорганизмов. Авто-  
 реферат. Москва., 2012 г., стр. 4-6, 10-14. RU  
 2508396 C2, 27.02.2014. RU 2471863 C2,  
 10.01.2013. US 5981271 A1, 09.11.1999.

**(54) СПОСОБ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ФОТОТРОФНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ**

(57) Реферат:

Изобретение относится к области биотехнологии, в частности к технологии выращивания фототрофных микроорганизмов. Способ культивирования фототрофных микроорганизмов включает приготовление посевного материала, питательной среды для выбранного вида фототрофного микроорганизма. Последующую подачу атмосферного воздуха в рабочую камеру фотобиореактора. Затем осуществление перемешивания культуральной жидкости перекачиванием помпой и барботированием. При этом заранее подготовленную клеточную супензию фототрофных микроорганизмов и отражающую пластину из гидрогеля с высоким альбедо помещают в фотобиореактор. Осуществляют поддержание освещенности на уровне  $100 \pm 5$

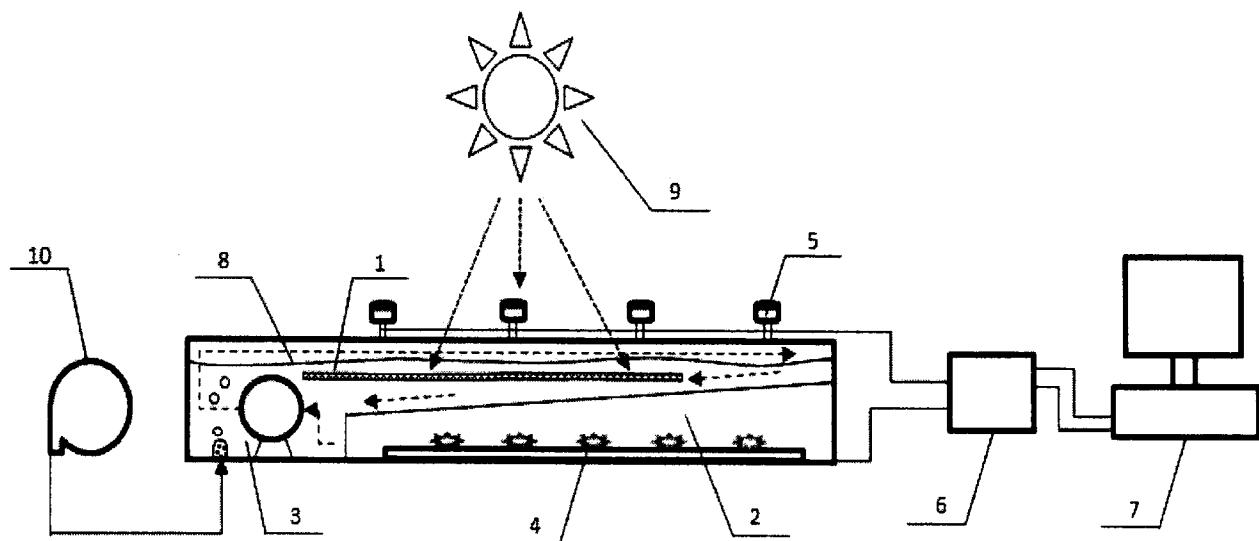
мкмоль/ $m^2 \cdot s$  в разное время суток автоматически путем изменения электронапряжения на источниках искусственного освещения от 3,6 до 5 В в зависимости от изменения напряжения на фоторезисторах по формуле:

$$V = \frac{1}{2} / (E^{0.8} * e^{(-\ln(24) - 0.8 * \ln(10))} + 0,1),$$

где V - напряжение, подаваемое на источники искусственного освещения, В; E - напряжение на фоторезисторах, В. Изобретение обеспечивает достижение технического результата, заключающегося в повышении энергетической эффективности и снижении энергетических затрат на процесс культивирования за счет обеспечения возможности использования режимов адаптивного освещения и повышения уровня освещенности в культуральной жидкости в

R U 2 7 3 2 2 2 5 C 1

фотобиореакторе при использовании отражающей пластины из гидрогеля с высоким альбедо. 3 пр., 1 табл., 1 ил.



Фиг. 1

R U 2 7 3 2 2 5 C 1  
R U 2 7 3 2 2 2 5 C 1

R U 2 7 3 2 2 2 5 C 1

RUSSIAN FEDERATION



(19)

RU (11)

2 732 225<sup>(13)</sup> C1

(51) Int. Cl.  
*C12M 1/00* (2006.01)  
*C12M 1/12* (2006.01)  
*C12N 1/00* (2006.01)

FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(52) CPC

*C12M 1/00* (2020.02); *C12M 1/12* (2020.02); *C12N 1/00* (2020.02)

(21)(22) Application: 2019143492, 24.12.2019

(24) Effective date for property rights:  
24.12.2019

Registration date:  
14.09.2020

Priority:

(22) Date of filing: 24.12.2019

(45) Date of publication: 14.09.2020 Bull. № 26

Mail address:

123182, Moskva, pl. Akademika Kurchatova, 1,  
NITS "Kurchatovskij institut", pervomu zam.  
direktora - rukovoditelyu Apparata Tsentrta L.Z.  
Levinu

(72) Inventor(s):

Gorin Kirill Viktorovich (RU),  
Gotovtsev Pavel Mikhajlovich (RU),  
Borgolov Artem Viktorovich (RU),  
Sergeeva Yana Eduardovna (RU),  
Rodionov Dmitrij Nikolaevich (RU)

(73) Proprietor(s):

Federalnoe gosudarstvennoe byudzhetnoe  
uchrezhdenie "Natsionalnyj issledovatelskij  
tsentr "Kurchatovskij institut" (RU)

(54) METHOD FOR CULTIVATION OF PHOTOTROPHIC MICROORGANISMS

(57) Abstract:

FIELD: biotechnology.

SUBSTANCE: invention relates to the field of biotechnology, in particular to the technology of growing phototrophic microorganisms. Method for cultivation of phototrophic microorganisms includes preparation of inoculum, nutrient medium for selected type of phototrophic microorganism. Subsequent supply of atmospheric air into working chamber of photobioreactor. Thereafter, culture fluid is mixed by pumping and bubbling. Previously prepared cell suspension of phototrophic microorganisms and the reflecting plate from the hydrogel with high albedo are placed into the photobioreactor. Maintain the illumination level of  $100 \pm 5 \text{ mcmol/m}^2\text{s}$  at different times of the day automatically by changing electric

voltage on artificial lighting sources from 3.6 to 5 V depending on voltage change on photoresistors by formula:

$$V = \frac{1}{2} / (E^{0.8} * e^{(-\ln(24)-0.8*\ln(10))} + 0,1),$$

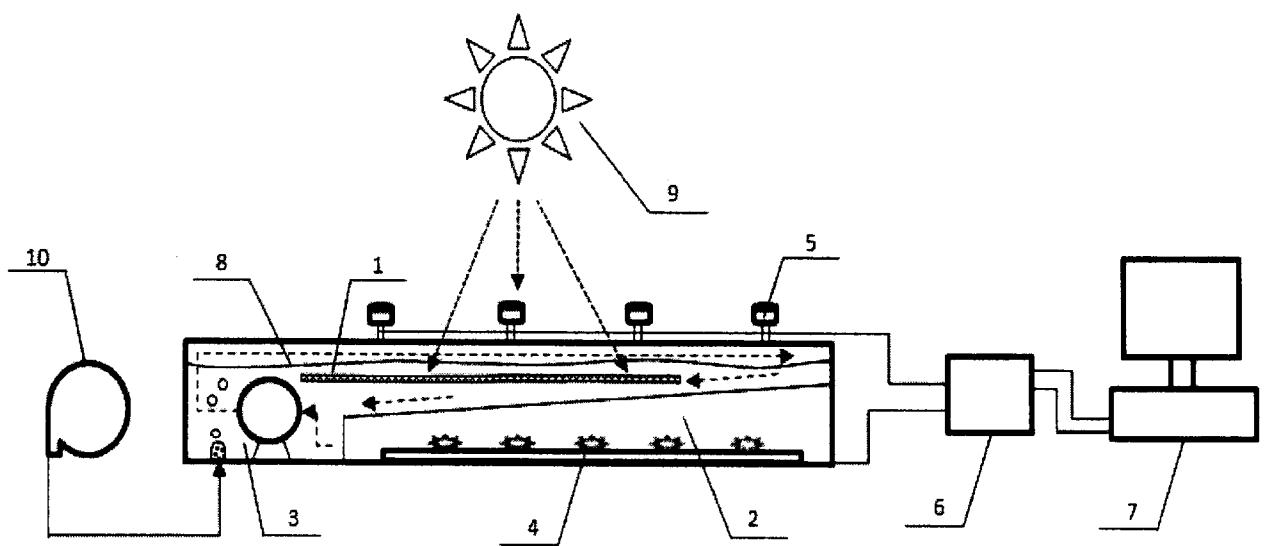
where V is voltage supplied to artificial lighting sources, V; E is voltage on photoresistors, V.

EFFECT: invention ensures achievement of technical result consisting in improvement of energy efficiency and reduction of energy costs for cultivation process due to possibility of using modes of adaptive lighting and increasing level of illumination in culture liquid in photobioreactor using reflecting plate from hydrogel with high albedo.

1 cl, 3 ex, 1 tbl, 1 dwg

R U 2 7 3 2 2 2 5 C 1

R U 2 7 3 2 2 2 5 C 1



Фиг. 1

R U 2 7 3 2 2 2 5 C 1

## Область техники

Изобретение относится к области биотехнологии, в частности, к способам 5 культивирования фотосинтезирующих микроорганизмов в изолированных и частично изолированных емкостях и может найти применение в биотехнологии для получения биомассы фототрофных микроорганизмов (ФМ) с целью последующего производства различных ценных продуктов (биотопливо, пигменты, пищевые добавки и т.д.) для нужд фармацевтической, косметической и пищевой промышленности, энергетики и сельского хозяйства.

## Уровень техники

- 10 Существуют различные системы для культивирования фотосинтезирующих микроорганизмов как в открытых системах - пруды и бассейны, так и в закрытых - фотобиореакторы различных конструкций. Наибольшее распространение получили реакторы с трубчатой, цилиндрической и панельной конструкцией. Среди основных достоинств закрытых систем следует отметить следующие особенности - низкая 15 вероятность контаминации, широкие возможности автоматизации и контроля технологических параметров, высокая производительность по биомассе.

Процесс получения биомассы ФМ является многостадийным, где основными стадиями являются стадия выращивания и стадия сбора биомассы с последующей сушкой (при необходимости). Эти стадии являются самыми энергозатратными [Slade, Bauen, 2013], 20 поэтому задача оптимизации этих стадий с точки зрения энергетической и как следствие, технико-экономической эффективности, остается актуальной и на сегодняшний день.

Чаще всего в практике культивирования ФМ в открытых системах используется преимущественно естественное освещение, тогда как в закрытых системах в большинстве случаев имеется возможность использования как естественного, так и искусственного 25 освещения. Следует отметить, что значительная часть энергии на стадии выращивания микроводорослей затрачивается на поддержание необходимой интенсивности освещения [Kouhia и др., 2019], что в значительной степени снижает экономическую эффективность производства биомассы из-за избыточного (перерасход электроэнергии) или недостаточного освещения (снижение выхода биомассы). Суточные и сезонные 30 колебания уровня инсоляции определяют дискретный характер поступления фотосинтетически активной радиации (ФАР), что в значительной степени снижает эффективность производства биомассы. Значительный потенциал снижения энергозатрат на освещение заключен в оптимизации процесса выращивания микроводорослей за счет комбинированного использования естественных и искусственных источников 35 света. Недостаток естественного освещения в современных системах культивирования фототрофных микроорганизмов восполняется за счет использования искусственного освещения с одновременным использованием систем автоматизации технологического процесса культивирования, в том числе с применением режимов адаптивного освещения. Под режимом адаптивного освещения следует понимать такой режим, который 40 позволяет получать в режиме онлайн данные об уровне освещенности в заданной области пространства, позволяя таким образом в автоматическом режиме посредством передаточных функций регулировать уровень освещенности в той или иной части фотобиореактора. Такая система интеллектуального управления освещением позволяет значительно снизить энергозатраты без снижения производительности фотобиореактора 45 по биомассе за счет поддержания оптимального уровня освещенности в любой части фотобиореактора.

Известно несколько способов культивирования фотосинтезирующих микроорганизмов с использованием системы автоматического управления, в том числе

с использованием режима адаптивного освещения.

Известен способ RU 2508396 описывающий культивирование фотосинтезирующих организмов в фотобиореакторе, который содержит рабочую емкость с первой и второй наружными боковыми поверхностями. Емкость сформирована из эластичного

5 прозрачного материала, непроницаемого для текучей среды и установлена в каркасе. Каркас имеет удлиненные и, по существу, вертикальные опорные компоненты.

Компоненты расположены, по меньшей мере, в одном горизонтальном ряду. Причем они установлены поочередно прилегающими к первой и второй наружным боковым 10 поверхностям рабочей емкости с возможностью их поддержки. Преимущество такой конструкции заключается в том, что во время заполнения рабочей емкости клеточной супензией данная емкость, натягиваясь за счет давления, прилагаемого жидкостью, будет упираться в опорные компоненты. В результате в своем рабочем состоянии она с помощью опорных компонентов принимает относительно плоскую форму в 15 вертикальном направлении и удлиненную форму в горизонтальном направлении. При этом задача, на решение которой направлено изобретение, решается посредством формирования относительно короткой длины пути света между первой и второй боковыми 20 поверхностями рабочей емкости, причем в то же время данная емкость может удерживать в себе относительно большой объем клеточной супензии.

В патенте US 5981271 описана установка для культивирования водорослей на

20 открытом воздухе, в которой реактор представляет собой лежащую на боку камеру с перепадом высот примерно 3% и с глубиной примерно 5 см.

В патенте US 2008274494 описан фотобиореактор, выполненный из прозрачного эластичного полимерного материала, например из полиэтилена, подвешенный к каркасу и имеющий форму длинной, относительно широкой и сплющенной емкости. Данная 25 емкость дополнительно снабжена внутренними отражателями потока, создающими турбулентность при протекании через емкость среды, культивирующей водоросли. Кроме того, эти отражатели будут удерживать постоянное расстояние между стенками емкости, не позволяя ей раздуваться при заполнении жидкостью.

Известен способ RU 2471863, который предусматривает культивирование

30 фотосинтезирующих организмов в биореакторе, содержащем емкость с крышкой и устройство для перемешивания и аэрации микроорганизмов, включающее размещенные в крышке патрубки соответственно для подачи аэрирующего газа и отвода газообразной среды. В емкости установлены несколько соосно расположенных и на расстоянии друг от друга кольцевые перегородки с открытыми снизу поплавками на вертикальной

35 полой оси с возможностью вращения и возвратно-поступательного по ней перемещения с образованием зазора между стенкой емкости и кольцевыми перегородками. Крышка и емкость реактора выполнены из светопроницаемых материалов. Биореактор имеет средство для удержания реактора в жидкой среде на плаву и источники искусственного освещения, установленные в полостях поплавков кольцевых перегородок. Последние 40 выполнены из оптически прозрачного материала. Емкость выполнена в виде одноразовой или многоразовой съемной оболочки и имеет средства для ее крепления соответственно к крышке и днищу емкости.

Известны способы CN 103974511 A и CN 103966086 A, в которых авторы предлагают использовать для интеллектуального управления освещением фотобиореактора

45 алгоритм нечеткой логики (fuzzy logic). Управление осуществляется с использованием сенсоров освещенности, расположенных на корпусе фотобиореактора, которые передают соответствующие показания на микроконтроллер, в котором с использованием алгоритма нечеткой логики рассчитывается уровень освещенности и производится

соответствующее регулирование уровня яркости светодиодов, а также цветовой состав освещения.

Наиболее близким является способ RU 2550266, выбранный за прототип, в котором в качестве дополнительного источника освещения предлагается использовать гранулы люминофора. Люминофор вносят в культуральную среду в количестве 10-30% по объему, что позволяет экономить электрическую энергию на освещение и повышает эффективность производства биомассы фотосинтезирующих микроорганизмов. По окончании культивирования гранулы с люминофором отделяются от культуральной жидкости с помощью сетчатого фильтра.

Недостатками вышеописанных систем культивирования фотосинтезирующих микроорганизмов является высокие удельные затраты электроэнергии на единицу биомассы фототрофных микроорганизмов.

#### Раскрытие изобретения

Технической проблемой, на решение которой направлено заявляемое изобретение, является повышение энергетической эффективности фотобиореакторов.

Технический результат заявленного изобретения заключается в использовании режимов адаптивного освещения и повышения уровня освещенности в культуральной жидкости за счет использования отражающей пластины из гидрогеля с высоким альбедо.

Технический результат достигается тем, что предложен способ включающий приготовление посевного материала, питательной среды для выбранного вида фототрофного микроорганизма, подачу атмосферного воздуха в рабочую камеру фотобиореактора, осуществление перемешивания культуральной жидкости перекачиванием помпой и барботированием, при этом заранее подготовленную клеточную суспензию фототрофных микроорганизмов и отражающую пластину из гидрогеля с высоким альбедо помещают в фотобиореактор, поддержание освещенности на уровне  $100 \pm 5 \text{ мкмоль}/\text{м}^2 \cdot \text{с}$  в разное время суток осуществляют автоматически путем изменения электронапряжения на источниках искусственного освещения от 3,6 до 5 В в зависимости от изменения напряжения на фоторезисторах по формуле:

$$V = \frac{1}{2} / (E^{0.8} * e^{(-\ln(24) - 0.8 * \ln(10))} + 0,1),$$

где V - напряжение, подаваемое на источники искусственного освещения, B; E - напряжение на фоторезисторах, B.

Совокупность приведенных выше существенных признаков приводит к тому, что значительно сокращаются энергозатраты в процессе культивирования при сохранении концентрации биомассы.

#### Краткое описание чертежей

На Фиг. 1 показан способ культивирования фототрофных микроорганизмов в фотобиореакторе: 1 - рабочая камера с суспензией фотосинтезирующих микроорганизмов, 2 - камера для размещения источника искусственного освещения, 3 - помпа для перемешивания культуральной среды, 4 - источник искусственного света, 5 - датчик интенсивности естественного света, 6 - контроллер, 7 - ПК с программным обеспечением, 8 - светоотражающая пластина из гидрогеля с наночастицами, 9 - источник естественного света, 10 - компрессор воздушный

#### Осуществление и примеры реализации изобретения

Заявляемый способ культивирования фототрофных микроорганизмов заключается в использовании фотобиореактора закрытого типа по фиг. 1 состоящего из основной камеры (оргстекло) 1, перекачивающей водяной помпы 3, системы адаптивного освещения, состоящую из светодиодного источника света 4, датчиков интенсивности

естественного света (фоторезисторов), контроллера 6 и компьютера с программным обеспечением 7, в основную камеру заливают культуральную жидкость, с предварительно инокулированным посевным материалом, и помещают в нее отражающую пластину из гидрогеля с наночастицами диоксида титана 8. Отражающая 5 пластина, расположенная в основной камере имеет высокий показатель отражательной способности (альбедо) и служит для более эффективного распределения света по толще клеточной суспензии. Режим адаптивного освещения реализуется следующим образом: свет от естественных источников поступает на установленные на корпусе ФБР датчики освещенности, которые в зависимости от интенсивности освещения меняют свое 10 сопротивление. Каждый из датчиков независимо друг от друга включен в электрическую цепь через контроллер, при этом на контроллере фиксируется падение или повышение напряжения в зависимости от интенсивности освещения. Таким образом происходит сбор данных об уровне освещенности в освещаемой части фотобиореактора. С 15 использованием программного обеспечения через контроллер происходит присвоение передаточных функций к соответствующему уровню освещения и на выходе реализуется управляющий алгоритм, который позволяет изменить напряжение, подаваемое на светодиоды в соответствии с уровнем освещенности. Регулирование напряжения на светодиодах производится по следующему алгоритму:

$$V = \frac{1}{2} / (E^{0.8} * e^{(-\ln(24) - 0.8 * \ln(10))} + 0,1),$$

где V - напряжение, подаваемое на источники искусственного освещения, В; E - напряжение на фоторезисторах, В.

Приведенные ниже примеры иллюстрируют вариант заявленного изобретения, но не ограничивает его.

25 Пример 1. Для культивирования была выбрана культура Chlorella sp. из коллекции НИЦ «Курчатовский институт». Приготовление посевного материала проводили на питательной среде следующего состава: KNO<sub>3</sub>, 1,25; KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1,25; MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 1; CaCl<sub>2</sub>, 0,0835; H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>, 0,1142; FeSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 0,0498; ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O, 0,0882; MnCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O, 0,0144; MoO<sub>3</sub>, 0,0071; CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O, 0,0157; Co(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·6H<sub>2</sub>O, 0,0049; EDTA·2Na, 0,5. Среду 30 стерилизовали в автоклаве при 121°C 15 минут, pH питательной среды доводили до 7. Выращивание посевного материала проводили в колбах Эrlenmeyera объемом 250 мл при постоянном освещении в люминостатае с использованием ламп дневного света мощностью 20 Вт при интенсивности света 50-60 мкмоль ФАР м<sup>-2</sup>с<sup>-1</sup>. Перемешивание 35 осуществлялось за счет барботирования атмосферным воздухом. Температуру при культивировании поддерживали на уровне 22±2°C путем кондиционирования воздуха в помещении. Питательную среду того же состава для культивирования в фотобиореакторе, что и в случае приготовления посевного материала, готовили на дистиллированной воде и стерилизовали в автоклаве при 121°C 15 минут, pH 40 питательной среды доводили до 7. В полученную питательную среду объемом 5 литров инокулировали посевной материал и заливали в рабочую камеру фотобиореактора.

Перемешивание осуществлялось за счет циркуляции среды с помощью помпы и пропускания атмосферного воздуха. Температуру при культивировании (22°C) поддерживали путем кондиционирования воздуха в помещении.

45 Культивирование проводилось в условиях помещения при наличии искусственного освещения - светодиодов, расположенных в нижней части фотобиореактора (светодиодная лента smd 2835, 120 диодов/метр, IP23) и естественного освещения (из оконного проема). Уровень искусственного освещения поддерживался постоянным -

100 мкмоль/м<sup>2</sup>\*с. Выход биомассы и удельные затраты приведены в таблице.

Пример 2. В рабочую камеру фотобиореактора помещали светорассеивающую пластины из гидрогеля (ПВС/ксантан) с содержанием частиц диоксида титана от 0,3 до 0,7 масс. %, приготовленного по методике, описанной в работе [Badranova и др., 2016].

Пластина размером 200\*200 мм помещалась в культуральную среду и обеспечивала эффективное светорассеяние в толще жидкости, как от естественных источников освещения, так и от искусственных. Культивирование проводилось в условиях помещения при наличии искусственного освещения - светодиодов, расположенных в нижней части фотобиореактора (светодиодная лента smd 2835, 120 диодов/метр, IP23) и естественного освещения (из оконного проема). Уровень искусственного освещения поддерживался постоянным - 100 мкмоль/м<sup>2</sup>\*с. Выход биомассы и удельные затраты приведены в таблице.

Пример 3. Культивирование проводили в тех же условиях что и в примере 1, с тем лишь отличием, что применялся адаптивный режим освещения. Суспензию микроводорослей в процессе роста освещали до достижения заданного уровня освещенности в 100 мкмоль/м<sup>2</sup>\*с, компенсируя недостаток естественного освещения постепенным увеличением яркости светодиодного освещения по алгоритму, реализуемому с помощью компьютера по формуле:

$$V = \frac{1}{2} / (E^{0.8} * e^{(-\ln(24)-0.8*\ln(10))} + 0,1)$$

где V - напряжение, подаваемое на светодиоды, В; E - напряжение на фотодиодорезисторе, В.

Выход биомассы и удельные затраты приведены в таблице.

Пример 4. Культивирование проводили с одновременным использованием гидрогеля (ПВС/ксантан) с содержанием частиц диоксида титана от 0,3 до 0,7 масс. % и режима адаптивного освещения. Режим освещения осуществляли как и в примере 3. Выход биомассы и удельные затраты приведены в таблице.

### Таблица

30

35

40

45

	Наименование эксперимента	Энергия, затраченная за период культивирования <sup>1</sup> , Вт*ч	Конечная концентрация биомассы <sup>2</sup> , г/л	Удельные электрозатраты, Вт*ч/г
5	Культивирование без гидрогеля с постоянным освещением	3456,00	1,10	3141,82
10	Культивирование с гидрогелем с постоянным освещением	3456,00	1,43	2416,78
15	Культивирование без гидрогеля с адаптивным освещением	2388,00	1,07	2231,78
20	Культивирование с гидрогелем с адаптивным освещением	2256,00	1,30	1735,39
25				
30				

Таким образом, наибольшая энергетическая эффективность культивирования достигается при одновременном использовании режима адаптивного освещения и отражающего гидрогеля.

<sup>1</sup> За период культивирования продолжительностью 5 суток

<sup>2</sup> По окончании периода культивирования продолжительностью 5 суток

#### (57) Формула изобретения

Способ культивирования фотосинтезирующих микроорганизмов в фотобиореакторе,

включающий приготовление посевного материала, питательной среды для выбранного вида фототрофного микроорганизма, подачу атмосферного воздуха в рабочую камеру фотобиореактора, осуществление перемешивания культуральной жидкости перекачиванием помпой и барботированием, отличающийся тем, что заранее подготовленную клеточную суспензию фототрофных микроорганизмов и отражающую пластину из гидрогеля с высоким альбедо помещают в фотобиореактор, поддержание освещенности на уровне  $100\pm5$  мкмоль/ $m^2\cdot s$  в разное время суток осуществляют автоматически путем изменения электронапряжения на источниках искусственного освещения от 3,6 до 5 В в зависимости от изменения напряжения на фоторезисторах по

формуле:

$$V = \frac{1}{2} / (E^{0.8} * e^{(-\ln(24) - 0.8 * \ln(10))} + 0,1),$$

где  $V$  - напряжение, подаваемое на источники искусственного освещения, В;  $E$  - напряжение на фоторезисторах, В.

10

15

20

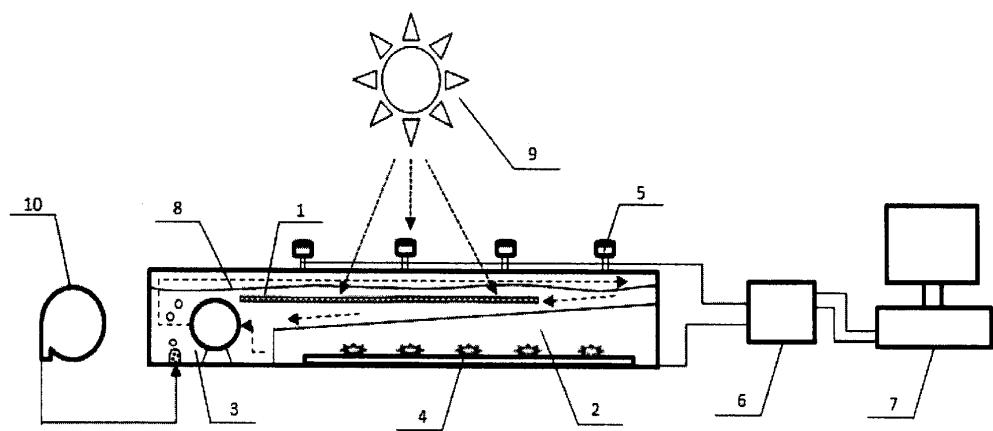
25

30

35

40

45



Фиг. 1