ВОПРОСЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МОДИФИЦИРОВАННОЙ ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ А5П-М1 ДЛЯ ВЫРАЩИВАНИЯ МИКРОВОДОРОСЛИ ХЛОРЕЛЛЫ

Нургельды Сейтгельдыев,
заведующий отделом технических наук Академия наук Туркменистана,
кандидат технических наук

Аннотация

Хлорелла является микроводорослью с диаметром клетки 2-10 мкм и относится к семейству зеленых протоккоковых водорослей. В нормальных условиях выращивания все штаммы хлореллы образуют в своей биомассе от 40-55% белка, до 35% углеводов, 5-10% липидов и 10% минеральных веществ.

В работе приведены закономерности и требования по разработке питательной среды, на основе которой путем её усовершенствования создана питательная среда А5П-М1, полностью удовлетворяющая потребности хлореллы в химических соединениях из органоминеральных веществах, таких как карбамид, аммофос, K_2SO_4 и Mg_2SO_4.

Экспериментальные работы по созданию сбалансированной питательной среды показали необходимость учета количества химических элементов, содержащихся в используемых водах для выращивания хлореллы. Проведенные опыты показали, что в одном литре воды озера рыбного хозяйства Бабадурмаз, находящегося 75 км восточнее Ашхабада, имеется 12,4% азота и 22,7% фосфора, необходимых для выращивания одного грамма биомассы хлореллы.

Ключевые слова: хлорелла, микроводоросли, биомасса, фотобиореактор, автоспор, штамм, липид.

Хлорелла является микроводорослью с диаметром клетки 2-10 мкм и относится к семейству зеленых протоккоковых водорослей. Хлорелла имеет одно ядро и растёт только за счет бесполого размножения. Ядро материнской клетки и внутренняя среда делятся на несколько частиц, которые снаружи покрыты клеточной стеной и в результате образуются от 2 до 32 автоспор. Они, увеличиваясь, набирая питательные вещества и достигая благоприятных условий, опять выходят во внешнюю среду, разрывая клеточную оболочку, начинают жить самостоятельно. Обычно клетки микроводоросли хлореллы делятся (размножаются) один раз в сутки, однако процесс размножения их видов интенсивного роста могут происходить часто. Питательность и ценность биохимического состава хлореллы, простое строение клеток и высокая скорость её размножения, упругость метаболизма, а так же такие свойства как возможность выращивания её в искусственных условиях, регулирования и управления любого вида параметров выращивания превратил хлореллу в лабораторный биотехнологический объект многих научно-исследовательских институтов (Иерусалимский, 1966; Мельников, Мананкина, 1991; Музаффаров, Таубаев, 1974). Питательность и многообразность органических соединений, которые образуются в результате её жизнеспособности, открывает возможность использования хлореллы во всех отраслях системы сельского хозяйства. Собственно, хлорелла имеет различные штаммы. Они отличаются друг от друга своей морфологией и экологическими условиями их содержания. При выращивании в нормальных условиях все штаммы хлореллы образуют в своей биомассе 40-55% белков, до 35% углеводов, 5-10% липидов и до 10% минеральных веществ (Музаффаров, Таубаев, 1974). Белковая фракция, образуемых органических веществ содержит все аминокислоты, в том числе все незаменимые (эти незаменимые аминокислоты

для человеческого и животного организма ими не синтезируются). Поэтому по качеству белки, образуемые хлореллой, превышают белков всех выращиваемых кормовых и пищевых культур. Моносахариды углеводной фракции органических веществ, образуемых хлореллой, в основном состоит из глюкозы и фруктозы, а основным полисахаридом является крахмал. Хлорелла содержит небольшое количество клетчатки, не превышающее 10%. Липидная фракция органических веществ в основном состоит из пальмитиновой, олеиновой, линолевой и линоленовой кислот. Эти жирные кислоты являются двуокисью, т.е. ненасыщенными жирными кислотами. Они составляют 80% всех липидов. Ненасыщенные жирные кислоты обладают очень высоким и биологическими и физиологическими свойствами. Витаминные комплексы, образуемые хлореллой, по своему количеству и множеству видов опережают все сельскохозяйственны культуры. Внизу приведены число и количество витаминов, содержащихся в одном грамме сухой биомассы хлореллы (Мельников, Мананкина, 1991):

1. Karotin (провитамин) – 100-1600 мкг
2. B1 витамин – 2-18 мкг
3. B2 витамин – 21-28 мкг
4. B2 витамин – 0,025-0,1 мкг
5. S витамин – 1300-5000 мкг
6. K витамин – 6 мкг
7. PP витамин – 110-180 мкг
8. E витамин – 10-350 мкг
9. D провитамин – 1000 мкг
10. Кислота пантотеновая – 12-17 мкг
11. Кислота фолиевая – 485 мкг
12. Виотин – 0,1 мкг
13. Лейковорин – 22 мкг

В процессе роста и развития хлорелла в результате своей жизненной работоспособности вырабатывает промежуточные и конечные продукты обмена веществ, множество различных аминокислот, ферментов, витаминов, органические кислоты такие как лимонная, яблочная, янтарная и муравьиная кислоты. Такой богатый состав хлореллы превращает её в один из основных объектов биотехнологии. В разных странах получены высокие показатели с использованием хлореллы в качестве кормовой добавки сельскохозяйственным животным. Также на основе разных биотехнологических способов можно получить биотопливо разного качества.

В искусственных условиях хлорелла выращивается в специально изготовленных стекло-трубных установках-фотобиореакторах. Основные требования к фотобиореактору: он должен обладать способностью беспрепятственного осуществления газообменного процесса, обеспечения равномерного падения солнечных лучей (освещения) на фотосинтезирующую поверхность и возможность регулирования – управления такими параметрами выращивания как температура жидкой минеральной питательной среды, количество подаваемого углекислого газа (CO_2), возможность беспрепятственного добавления минеральных веществ, входящих в состав питательной среды, осуществление циркуляции хлореллы с питательной средой внутри фотобиореактора с определенной скоростью.

При выращивании хлореллы в искусственных условиях экологические условия, такие как температура и pH питательной среды, количество CO_2, мощность света, падающей на поверхность фотобиореактора также занимают самые основные позиции.

При выращивании хлореллы искусственным способом одним из самых основных условий является создание питательной среды для её выращивания. Эту среду составляют водные

растворы минеральных или органоминеральных веществ. Так как направление биосинтеза хлореллы ориентировано на образование белков, оно нуждается в большом количестве азота (азот входит в состав аминокислот, мономеров белков). Для её нормального роста в определенном количестве необходимы макроэлементы – фосфор, калий, магний, сера и кальций. Отсутствие или нехватка этих макроэлементов приводит к разрушению процессов, связанных с ростом и размножением клеток хлореллы, и они гибнут. Для нормального роста и размножения клеток хлореллы вместе с макроэлементами необходим также специально разработанный комплекс микроэлементов. Они ускоряют и регулируют такие процессы выращивания хлореллы как рост, размножение и образование биомассы. Питательная среда для хлореллы создаётся на основе следующих закономерностей и требований:

а) минеральные вещества, входящие в состав питательной среды, должны быть близкими их содержанию в биомассе хлореллы (сбалансированная среда);

б) в течение всего времени выращивания хлореллы pH питательной среды должно поддерживаться равномерно (приблизительно 7);

в) минеральные соли не должны быть в виде осадков;

д) в созданной питательной среде хлорелла должна равномерно расти и размножаться.

На основе этих закономерностей нами усовершенствована сбалансированная среда А5П (Упитис, 1983) и на её основе создана питательная среда А5П-М1 (Сейтгельдыев, Упитис и др., 1992). Эта питательная среда состоит из органоминеральных веществ таких как карбамид, аммофос, K_2SO_4, Mg_2SO_4, которые полностью удовлетворяют потребности хлореллы в химических соединениях.

Экологические условия выращивания каждого из различных штаммов хлореллы имеют определенные параметры (температура, химический состав питательной среды, освещение и т.п.). В этих условиях все штаммы образуют в большом количестве белки (до 55%). Если, изменив экологические условия, создать стрессовое состояние для хлореллы, то её штаммы образуют различное количество органических соединений. В результате этого возникает понятие липид, образующее штаммы хлореллы.

Воды, предназначенные для научных исследований, взяты из трёх озер, приблизительными размерами 150 х 200 квадратных метров, находящиеся в 10 метрах друг от друга в Бабадурмазе. Анализ химического состава этих вод проведен с помощью фотоэлектрического калориметра. Мы считали, что этот анализ почти полностью прояснит эту задачу. Потому что, во-первых, количество солей, свободно лежащих на дне озер считается сравнительно небольшим, во-вторых, при выращивании рыб искусственным способом часть веществ из корма рыб растворяясь в воде могут переходить в её состав.

В таблице 1 приведены результаты анализов вод озер для содержания рыб в Бабадурмазе.

Таблица 1

Результаты анализов вод озер для содержания рыб в Бабадурмазе

№	NO_3 мг/л	NH_4 мг/л	NO_2 мг/л	Ортофосфаты, мг/л	pH
I озер	4,000	11,000	2,400	12,400	7,432
II озер	4,880	3,500	2,260	3,600	7,544
III озер	4,880	8,680	2,260	9,040	7,648

При выращивании хлореллы в фотобиореакторе для образования 1г/л сухой биомассы необходимо в среднем 82 мг азота, 17,6 мг фосфора (Мельников, Мананкина, 1991; Музаффаров,

Таубаев, 1974). Главной задачей стало определение содержания этих элементов в составе воды, взятой для анализа при помощи фотоэлектрического калориметра. Если определить содержимое количество этих элементов в воде, то есть возможность определить, какая часть всего необходимого азота и фосфора уже готовы к использованию. Однако, микроводоросль хлорелла не может усваивать все формы азота и фосфора, она способна усваивать нитраты азота, соли иона аммония и нитритные формы азота. А от фосфора усваивает его ортофосфатные (соли фосфорной кислоты) формы. При химическом анализе внимание в основном было обращено на содержание этих соединений. Так как в первое озеро рыбы были запущены на 2 дня раньше, чем остальным, химические расчеты были проведены на основе показателей данного водоёма.

Расчеты показали, что в составе воды этого озера имеются усваиваемые хлореллой формы азота в количестве 10,2 мг/л и фосфора (PO_4) 12,4 мг/л. Отсюда можно определить содержание фосфора в 1 литре воды, который может быть усвоен хлореллой:

$$12{,}4 \times 0{,}326 = 4 \text{ мг/л.}$$

Далее было определено, сколько процентов составляют элементы азота и фосфора, имеющиеся в составе воды озера от их общего количества, необходимого для синтезирования 1г/л сухой биомассы хлореллы. Расчеты показали, что для синтезирования 1г/л сухой биомассы хлореллы необходимое количество азота составляет в среднем 82 мг/л. А в составе воды озера имеется 10,2 мг/л. азота. Отсюда расчетным путем можно определить, какую часть необходимого азота в (N) составляет азот составе воды озера:

$$10{,}2 \times 100 : 82 = 12{,}4\% \text{ N.}$$

Для синтезирования 1г/л сухой биомассы хлореллы необходимое количество фосфора, в среднем составляет 17,6 мг/л. Тогда можно определить, какую часть необходимого фосфора (P) составляет его количество в составе воды озера:

$$4 \times 100 : 17{,}6 = 22{,}7\% \text{ P.}$$

С помощью этих расчетов можно определить в каком количестве и форме добавлять азотные и фосфорные соединения. Итак, недостающее количество азота и фосфора добавляем из аммофоса и клетчатки (мочевины). Когда недостающее количество фосфора добавляем из аммофоса, необходимо иметь в виду, что в составе аммофоса имеется определенная часть азота. Поэтому это количество учитывается при добавлении мочевины в питательный раствор (среду).

ЛИТЕРАТУРА

1. Иерусалимский Н.Д. Принципы регулирования скорости роста микроорганизмов // Управляемый биосинтез, – М., 1966.
2. Мельников С.С., Мананкина Е.Е. Хлорелла: физиологически активные вещества и их применение. – Минск 1991.
3. Музаффаров А. М., Таубаев Т.Т. Хлорелла, Ташкент, «Фан». 1974 – С. 130.
4. Сейтгельдыев Н., Упитис В.В. и др. Модификация среды А-5П и испытание её при опытно-промышленном культивировании хлореллы с использованием солнечной энергии. – Ашхабад, Наука и техника в Туркменистане, Серия биологических наук №1,1992, –С. 46
5. Упитис В.В. Макро- и микроэлементы в оптимизации минерального питания микроводорослей. – Рига, Издательство «Зинатне», 1983 – 239 С.