**ПРОЕКТ АВТОНОМНОЙ СИСТЕМЫ ДЛЯ ИССЛЕДОВАНИЯ ВОДОРОСЛЕЙ
В УСЛОВИЯХ, ПРИБЛИЖЕННЫХ К НАТУРАЛЬНЫМ****А.С. Гулин, Р.П. Тренкеншу**

ФИЦ «Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН»

РФ, г. Севастополь, пр. Нахимова, 2

E-mail: gulins_gent@mail.ru

В работе сформулированы основные проблемы и задачи, возникающие при исследовании микроводорослей в экспедиционных условиях. Обоснована необходимость разработки автономной системы, позволяющей проводить оценку первичной продукции водоемов, непосредственно на месте, без лабораторных условий. В результате анализа различных факторов представлен проект автономной системы для исследования микроводорослей. На основании предъявляемых к установке требований и необходимого функционала была разработана блок-схема и представлено подробное описание всех компонентов.

Ключевые слова: система автоматического контроля роста микроводорослей, культиватор, хеостат, фотобиореактор, измерение оптической плотности.

Поступила в редакцию: 18.05.2021. После доработки: 03.06.2021.

Введение. Микроводоросли все чаще используются в научно-исследовательских и промышленных целях. Они служат источниками витаминов, растительного белка и т.д. Микроводоросли являются эффективным преобразователем световой энергии, в связи с этим представляют интерес в качестве объекта ма-рикультуры [1–4].

Производство биомассы микроводорослей заключается в синтезе ими белков, углеводов, липидов, витаминов и других соединений из углекислого газа, соды, воды и минеральных солей, находящихся в питательной среде, с помощью энергии света. Микроводоросли имеют короткий цикл роста, а производство не требует больших затрат: для их выращивания необходимы только вода, солнечный свет и питательные вещества, они не занимают плодородные земли, нет сезонных ограничений.

В связи с изложенными аспектами возникает вопрос о способах культивирования микроводорослей. Разработке систем культивирования микроводорослей посвящено немало литературы [5, 6]. Авторы предлагают разные виды конструкций, начиная от самых элементарных лабораторных культиваторов, за-

канчивая автоматизированными промышленными системами [7–9].

При изучении роста микроводорослей в природном водоеме, мы сталкиваемся с тем, что водоросли растут и выедаются там же. В результате подсчет оказывается сильно затруднен.

Для более точных исследований культура из водоема, как правило, помещается в культиватор в лаборатории. Но в результате получаются косвенные данные, вызванные многими факторами, такими как несоответствие температуры и химического состава воды в лабораторном культиваторе параметрам природного водоема.

Но в экспедиционных условиях использование стационарных лабораторных установок практически невозможно. И это фактически исключает проведение исследований микроводорослей непосредственно в полевых условиях (в водоеме).

Таким образом, создание автоматической мобильной установки для культивирования микроводорослей актуально в исследовательских целях в связи с возможностью проводить оценку первичной продукции водоемов.

Устройство позволит получать новые знания о процессах роста и накопления биохимических компонентов клетками микроводорослей, а также предоставит возможность проводить исследования вне лаборатории в естественных условиях, приближенных к ситуации в водоеме.

В данной работе предлагается проект мобильной установки, которая обеспечивает рост культуры микроводорослей как в накопительном режиме, так и в режиме хемостата, при требуемых удельных скоростях потока. Основным преимуществом установки является возможность использования в полевых условиях при организации экспедиционных работ, и в качестве экспериментальных культиваторов при организации промышленного производства.

Применение установки позволит производить исследование культур микроводорослей в условиях максимально приближенных к натуральным, поскольку

ку и культура, и вода берутся непосредственно из водоема. А температура и химический состав соответствуют природным характеристикам.

Основные требования, предъявляемые к мобильной установке, исходят из факторов, ограничивающих рост культуры микроводорослей, а именно: световые условия, газовое обеспечение и минеральные компоненты питательной среды [10, 11]. Общее влияние упомянутых факторов определяет форму накопительной кривой.

Описание установки. Установка для культивирования микроводорослей состоит из фотобиореактора, систем освещения, газообеспечения, термостабилизации, системы обеспечения непрерывного режима культивирования, контрольно-измерительной системы, системы подачи питательной среды и системы питания. Блок-схема установки, представлена на рис. 1.

Рис. 1. Блок-схема автономной системы для исследования водорослей

Fig. 1. Block diagram of autonomous system for research of algae

Перечень систем установки:

1. фотобиореактор достаточного объема;
2. система освещения;
3. система газообеспечения;
4. система термостабилизации;

5. система обеспечения непрерывного культивирования;
6. контрольно-измерительная система;
7. система подачи питательной среды;
8. система питания.

Фотобиореактор. Для обеспечения достаточного количества биомассы и ежедневного отбора проб оптимальным является компромисс между толщиной освещаемого слоя и общим объемом фотобиореактора при его небольших размерах и весе. Минимальный объем фотобиореактора, обеспечивающий условное невмешательство в процессы роста, составляет 3 литра [12]. Для поддержания постоянства освещенности фронтальные стенки фотобиореактора рекомендуются делать из стекла.

Применение горизонтальной конструкции фотобиореактора наиболее оптимально для использования установки в экспедиционных условиях, с максимальным приближением условий роста к естественным. Подобная схема позволяет снизить затраты энергопотребления системой освещения, а также более эффективно использовать естественное освещение. Горизонтальная конструкция позволяет переносить данные на промышленные системы культивации микроводорослей.

Система освещения. Удельная освещенность клеток складывается из поверхностной освещенности, которая обусловлена мощностью световой матрицы, освещаемого ею слоя фотобиореактора и интенсивности перемешивания культуры.

Для реализации максимальной скорости роста культур микроводорослей необходимы мощные источники света, тонкий освещаемый слой при активном перемешивании суспензии клеток. В качестве источника света используется светодиодная матрица. Средняя освещенность на поверхности фотобиореактора составляет 10 кЛк на расстоянии 5 см от источника света. Предусмотрена регулировка интенсивности светового излучения путем изменения яркости свечения светодиодной матрицы.

Система газообеспечения. Данная система установки необходима для равномерного перемешивания суспензии микроводорослей внутри фотобиореактора и распределения питательных веществ между клетками. Также эта система служит для обеспечения подачи в фотобиореактор углекислого газа и вы-

нос кислорода, являющегося побочным продуктом фотосинтеза. Основным элементом системы является аквариумный компрессор.

Для обеспечения максимальной продуктивности необходимо увеличить подачу углекислого газа в фотобиореактор до максимального предела, который составляет 5% от газо-воздушной смеси [13]. Обеспечить выполнение данного режима работы позволяет применение аквариумного насоса, баллона с углекислым газом, смесителя с обратным клапаном. Также компрессор обеспечивает перемешивание суспензии для равномерного распределения клеток в культиваторе и, соответственно, равномерного освещения. Для улучшения перемешивания нижняя грань фотобиореактора должна быть расположена под углом 25°.

Для автоматизации работы системы газообеспечения необходимо предусмотреть датчик концентрации углекислого газа (CO₂) и датчик содержания кислорода. Датчик кислорода позволяет производить оценку естественный фотосинтеза в натуральных условиях.

Система термостабилизации. Так как при работе в полевых условиях фотобиореактор будет подвергаться повышенному нагреву от солнечных лучей, необходимо предусмотреть систему охлаждения (водяную рубашку). Изменение скорости потока воды через водяную рубашку позволит поддерживать температуру в фотореакторе на заданном уровне. Для повышения эффективности охлаждения в теплое время года целесообразно применить дополнительный вентилятор, охлаждающий водяную рубашку. Для поддержания заданной температуры в холодное время года возможно использование современных ультратермостатов.

Система обеспечения непрерывного культивирования. Основным элементом является микропроцессорная система управления. Система управления анализирует сигналы, поступающие от датчиков контрольно-измерительной системы, и записывает их значение на карту памяти. Также полностью обеспечивает и контролирует в непрерывном режиме работу других систем установки.

Контрольно-измерительная система. Измерительная система включает в

себя несколько датчиков с системами анализа и управления:

Измеритель освещенности предназначен для определения количества световой энергии, падающей на поверхность фотобиореактора от светодиодной матрицы. Чувствительность датчика 100 мВ на 10 кЛк. Линейная зависимость между освещенностью и вольт-амперными характеристиками датчика сохраняется в пределах 0–200 мВ, то есть 0–20 кЛк, что и составляет измерительный диапазон прибора.

Измеритель оптической плотности позволяет производить оценку биомассы микроводорослей на всех стадиях роста. Измеритель подключен непосредственно к фотобиореактору и работает с проточной культурой, передавая данные на систему обеспечения непрерывного культивирования, для их последующей обработки и записи.

Устройство представляет собой фотометрическую ячейку, состоящую из стеклянной кюветы, изолированной от внешних источников освещения. С одной стороны кюветы находится монохроматический светодиод, световой поток которого направлен таким образом, чтобы полностью освещать кювету по всей площади. С обратной стороны кюветы находится фотоэлемент, к которому подключен вольтметр, регистрирующий изменение напряжения на фотоэлементе. Циркуляция культуры через кювету, обеспечивается аквариумным насосом.

Измеритель pH предназначен для измерения кислотных и/или щелочных показателей, активности ионов водорода в жидкостях и активности других одновалентных катионов, оснащен температурной компенсацией и имеет высокую точность ($\pm 0,005$ pH).

Цифровой термометр необходим для контроля температуры питательной среды в фотобиореакторе в режиме реального времени. Диапазон измерения температуры от 0 до $+50^{\circ}\text{C}$, погрешность $0,1^{\circ}\text{C}$.

Система подачи питательной среды. Система обеспечивает рост микроводорослей в режиме хемостата. Основными элементами являются емкость для питательной среды и электромагнитный

клапан. В качестве емкости для питательной среды используется пятилитровый пластиковый бочонок. Питательная среда через шланг самотеком поступает к электромагнитному клапану, находящемуся в нормально закрытом состоянии. При подаче сигнала от системы обеспечения непрерывного культивирования, на клапан подается напряжение, он открывается, и питательная среда поступает в фотобиореактор. Предусмотрена регулировка скорости подачи питательной среды как программно, так и в ручном режиме.

Система питания. Система питания, должна обеспечивать поддержание стабильной работы установки в экспедиционных условиях, как при наличии сети электропитания 220 В, так и при ее отсутствии. Для этого целесообразно применить инвертор 12 В – 220 В с системой бесперебойного питания мощностью не менее 500 Вт и свинцовую батарею с напряжением 12 В и ёмкостью не менее 100 А/ч.

Заключение. В предложенном проекте автономной системы для исследования микроводорослей разработана оптимальная конструкция, которая обеспечивает контроль основных параметров роста и физиологического состояния, а также возможность простого управления ими.

Отличительными особенностями данной разработки является мобильность, надежность конструкции и доступность ремонта, а также невысокая стоимость.

Использование установки в экспедиционных условиях, позволит быстро получить данные о росте различных видов и штаммов микроводорослей, не покидая водоема, и при отсутствии лабораторных условий. Одна из задач, которую в перспективе может решить данная установка, это поиски лимитирующего фактора для водоема.

Работа выполнена на базе ЦКП «Спектрометрия и хроматография» ФИЦ ИнБЮМ, в рамках темы госзадания № 0556-2021-0004 «Исследование механизмов управления продукционными

процессами в биотехнологических комплексах с целью разработки научных основ получения биологически активных веществ и технических продуктов морского генезиса».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Курс низших растений. М.: Высшая школа, 1981. 520 с.
2. Одноклеточные водоросли как возобновляемый биологический ресурс: обзор / Г.С. Минюк, И.В. Дробецкая, И.Н. Чубчикова [и др.] // Морской экологический журнал. 2008. № 2. С. 5–23.
3. Тренкениу Р.П., Геворгиз Р.Г., Боровков А.Б. Основы промышленного культивирования дуналиеллы солоноводной (*dunaliella salina* teod.) // Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика. 2005. С. 103.
4. Водоросли: справочник. Киев, 1989. 608 с.
5. Цыганков А.А., Елизаров Е.Е. Фотобиореактор: патент РФ № RU2451446C1, 29.09.2010. Опубл.: 27.05.2012. Бюл. № 15.
6. Перт С.Д. Основы культивирования микроорганизмов. М.: Мир, 1978. 331 с.
7. Fabregas J., Garcia D., Morales E. Renewal rate of semicontinuous culture of the microalga *Por-phyridium cruentum* modifies phycoerythrin, exopolysaccharide and fatty acid productivity // J. Ferment. Bioengin. 1998. Vol. 86, № 5. P. 463–467.
8. Novick A., Szilard L. Description of the chemostat / A. Novick, L. Szilard // *Science*. – 1950. – Vol. 112. – P. 715 – 718.
9. Vonshak A. Laboratory techniques for the cultivation of microalgae. Handbook of micro-algal mass culture, 1986. P. 117–145.
10. Тренкениу Р.П. Простейшие модели роста микроводорослей. Периодическая культура // *Экология моря*. 2005. № 67. С. 89–97.
11. Курс низших растений. М.: Высшая школа, 1981. 520 с.
12. Тренкениу Р.П., Лелеков А.С., Боровков А.Б., Новикова Т.М. Унифицированная установка для лабораторных исследований микроводорослей // *Вопросы современной альгологии*. 2017. № 1. 28 с.
13. Тренкениу Р.П., Лелеков А.С. Моделирование роста микроводорослей в культуре. Белгород: ООО «Константа», 2017. 152 с. doi: 10.21072/978-5-906952-28-8.

DESIGN OF AN AUTONOMOUS SYSTEM FOR STUDYING ALGAE UNDER CONDITIONS CLOSE TO NATURAL

A.S. Gulin, R.P. Trenkenshu

The A.O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas, RAS,
RF, Sevastopol, Nachimov Av., 2

The main problems and tasks, arising in the study of micro-algae in expeditionary conditions, are formulated in the work. The necessity of developing an autonomous system that allows assessing the primary production of reservoirs, directly on the spot, outside laboratory conditions, is substantiated. As a result of analyzing various factors, a design project of an autonomous system for microalgae study is presented. Based on the requirements for the installation and the functionality required, a block diagram has been developed and a detailed description of all components is provided.

Keywords: automatic control system for microalgae growth, cultivator, hemostat, photobioreactor, optical density measurement.

REFERENCES

1. *Kurs nizshikh rasteniy*. Moscow, Vysshaya shkola, 1981. 520 p.
2. *Minyuk G.S., Drobetskaya I.V., Chubchikova I.N., Te-rent'yeva N.V.* Odnokletochnyye vodorosli kak vozobnovlyayemyy biologicheskiy resurs: obzor, MEZH, 2008, No 2. pp. 5–23.
3. *Trenkenshu R.P., Gevorgiz R.G., Borovkov A.B.* Osnovy promyshlennogo kul'tivirovaniya dunalielly solonovodnoy (dunaliella salina teod.): Sevastopol'. EKOSI-Gidrofizika. 103 p.
4. *Vodorosli: Spravochnik*. Kiyev, 1989, 608 p.
5. *Tsygankov A. A., Yelizarov Ye. Ye.* Patent RF № RU2451446C1, 29.09.2010. Fotobioreaktor, Patent Rossii № RU2451446C1. Opublikovano: 27.05.2012 Byul. № 15.
6. *Pert S.D.* Osnovy kul'tivirovaniya mikroorganizmov. Moskow, Mir, 1978, 331 p.
7. *Fabregas J., Garcia D., Morales E.* Renewal rate of semicontinuous culture of the microalga *Porphyridium cruentum* modifies phycoerythrin, exopolysaccharoide and fatty acid productivity, Ferment. Bioengin, 1998, Vol. 86, No 5, pp. 463 – 467.
8. *Novick A., Szilard L.* Description of the hemostat, Scien., 1950, Vol. 112, pp. 715 – 718.
9. *Vonshak A.* Laboratory techniques for the cultivation of microalgae, Handbook of micro-algal mass culture, 1986, pp. 117 – 145.
10. *Trenkenshu R.P.* Prosteyshiye modeli rosta mikrovodorosley. Periodicheskaya kul'tura, *Ekologiya morya*, 2005, No 67, pp. 89 - 97.
11. *Kurs nizshikh rasteniy*. Moscow, Vysshaya shkola, 1981, 520 p.
12. *Trenkenshu R.P., Lelekov A.S., Borovkov A.B., Novikova T.M.* Unifitsirovannaya ustanovka dlya laboratornykh issledovaniy mikrovo-dorosley, *Voprosy sovremennoy algologii*, 2017, No 1 (13), 28 p.
13. *Trenkenshu R.P., Lelekov A.S.* Modelirovaniye rosta mikrovodorosley v kul'ture. Belgorod: OOO “Konstanta”, 2017, 152 p. DOI: 10.21072 / 978-5-906952-28-8.