УДК 628.358

DOI: 10.35809/2618-8279-2020-2-11

КУЛЬТИВИРОВАНИЕ *CHLORELLA VULGARIS* ПРИ ВОЗДЕЙСТВИИ ПОЛНОГО СПЕКТРА И ЕСТЕСТВЕННОГО ИЗЛУЧЕНИЙ

CULTIVATION OF *CHLORELLA VULGARIS* UNDER EXPOSURE FULL SPECTRUM AND NATURAL RADIATION

А.Е. Новиков, доктор технических наук, доцент,
М.И. Филимонов,
А.Ю. Торопов,
М.В. Фролова, кандидат биологических наук

A.E. Novikov, doctor of technical sciences, associate professor,
M.I. Filimonov,
A.Yu. Toropov,
M.V. Frolova, candidate of biological sciences

Всероссийский научно-исследовательский институт
орошаемого земледелия

All-Russian Scientific Research Institute of Irrigated Agriculture

Функционирование предприятий агропромышленного комплекса неразрывно связано с образованием высококонцентрированных сточных вод, содержащих органические и неорганические загрязняющие компоненты. Безопасная утилизация такого рода отходов возможна лишь при снижении концентрации вредных и токсичных веществ до предельно допустимых значений. Однако широко используемые технологии комплексной обработки сточных вод, в основе которых лежат физические и реагентные методы воздействия на загрязняющую компоненту, с одной стороны, являются довольно затратными и не всегда эффективными, а с другой, – не отвечают принципам природообустройства при эксплуатации техно-природных систем. Минимизация антропогенного воздействия на водные объекты возможна путем интегрирования в существующие очистные сооружения стадии очистки с применением гидробионтов, например, *Chlorella Vulgaris*. В настоящее время фактором, лимитирующим использование хлореллы для доочистки стоков, выступает недостаточная изученность влияния различных условий на процесс культивирования хлореллы в виду фрагментарных исследований в этом направлении. Проведен опыт по оценке влияния полного спектра и естественного излучения на интенсивность роста *Chlorella Vulgaris*. Установлено, при воздействии излучением полного спектра на популяцию одноклеточной зеленой водоросли в период ее культивирования прирост биомассы относительно численности колонии при воздействии естественного излучения (48 млн кл./мл.) составляет 7 млн кл./мл, или 15% – 55 млн кл./мл. Доказано, что интенсивный рост колонии микроводоросли идет в течение 120 часов вне зависимости от вида излучения, дальнейшее культивирование хлореллы нецелесообразно ввиду замедления процесса роста.

The functioning of enterprises in the agro-industrial complex is inextricably linked with the formation of highly concentrated wastewater containing organic and inorganic polluting components. Safe disposal of this kind of waste is possible only when the concentration of harmful and toxic substances is reduced to the maximum permissible values. However, widely used technologies for complex wastewater treatment, which are based on physical and reagent methods of influencing the polluting component, on the one hand, are quite costly and not always effective, and, on the other hand, do not meet the principles of environmental management when operating techno-natural systems. Minimization of anthropogenic impact on water bodies is possible by integrating the treatment stage with the use of aquatic organisms, for example, *Chlorella Vulgaris*, into existing treatment facilities. At present, the factor limiting the use of chlorella for wastewater treatment is insufficient knowledge of the influence of various conditions on the process of chlorella cultivation in view of fragmentary studies in this direction. An experiment was carried out to assess the effect of the full spectrum and natural radiation on the growth rate of *Chlorella Vulgaris*. It was found that when exposed to full spectrum radiation on the population of unicellular green algae during the period of its cultivation, the increase in biomass relative to the size of the colony when exposed to natural radiation (48 million cells/ml) is 7 million cells/ml, or 15% – 55 million cells./ml. It is proved that the intensive growth of the microalgae colony lasts 120 hours, regardless of the type of radiation, further cultivation of chlorella is impractical due to the slowdown in the growth process.

Ключевые слова: сточные воды, очистные сооружения, хлорелла, зеленая микроводоросль, культивирование, аквакультура, излучение

Key words: wastewater, sewage treatment plant, chlorella, green microalgae, cultivation, aquaculture, radiation

Введение. В современных условиях динамичного развития сельскохозяйственной промышленности наблюдается стабильное увеличение объема сточных вод, которые после санитарной обработки поступают в открытые водные объекты.

Согласно статистическим данным [9], в 2018 году отечественным сельскохозяйственным сектором было сгенерировано 3 973 млн м³, или 10% всех сточных вод. Исследования качественных и количественных параметров стоков различного генезиса, поступающих в водоемы, позволили установить, что лишь 11% от общего объема сброса соответствуют санитарным нормам, в то время как 72% утилизируются недостаточно очищенными и 17% не подвергаются очистке [1, 13].

В результате оценки состояния водных объектов РФ было выявлено, что многолетняя антропогенная нагрузка на крупнейшие реки, такие как Волга, Обь, Енисей, Амур, спровоцировала их экстремально высокий уровень загрязнения, что в конечном итоге привело к непригодности данных объектов для использования в питьевых целях [8].

На рисунке 1 отображен количественный состав загрязняющих компонентов, содержащихся в бассейнах крупнейших рек России. Следует отметить, что 60% всех элементов находятся в виде растворенных химических соединений, а 40% представляют взвешенные вещества неорганического и органического происхождения.

Присутствие в водоемах загрязняющих веществ химического и органического генезиса провоцирует нарушение кислородного баланса водных экосистем, гибель микроорганизмов и снижение самоочищающей способности прудов и рек, тем самым обуславливая высокую экологическую напряженность.

По мнению многих ученых, причиной сложившейся ситуации является низкая эффективность существующих очистных сооружений ввиду несоблюдения принципов природообустройства при эксплуатации техно-природных систем [2, 12].

В технологическом аспекте очистка сточных вод от загрязнений должна осуществляться в 4 этапа: механическая очистка, биологическая очистка, доочистка, дезинфекция, сброс очищенной воды в водоем. Эффективная очистка сточных вод и снижение концентрации загрязняющих веществ до их ПДК возможна лишь при организации комплексного подхода с учетом реализации всех четырех этапов. Однако часто в технологических линиях очистных сооружений отсутствует стадия доочистки, направленная на извлечение остаточных

Рисунок 1 – Основные загрязняющие компоненты, содержащиеся в водных экосистемах РФ

микроорганизмов, продуктов их жизнедеятельности, а также органических соединений, не прошедших деградацию на предыдущих стадиях. Сброс таких сточных вод приводит к накоплению в водоемах соединений биогенных элементов, провоцирующих эвтрофикацию водных экосистем. Решением сформулированной проблемы может стать использование на очистных сооружениях одноклеточных гидробионтов, обеспечивающих биотрансформацию ксенобиотиков.

В последние годы на стадии доочистки стоков все чаще применяют метод с использованием одноклеточной зеленой микроводоросли *Chlorella Vulgaris* ИФР №С-111 [11]. Исследованиями установлено, что эффективность удаления аммонийного и нитритного азота за 14 суток составляет 90% и 97% соответственно [3]. Схожие результаты получены в опытах по обработке хлореллой сточных вод Оленегорского горно-обогатительного комбината. В частности установлено, что после 24 часов содержание нитрит-ионов в опытных образцах снизилось в 2 раза [4]. Полученные данные свидетельствуют о высоком потенциале одноклеточной зеленой микроводоросли *Chlorella Vulgaris* в технологических линиях очистных сооружений.

Промышленное культивирование *Chlorella Vulgaris* может реализовываться фотоавтотрофным, миксотрофным или гетеротрофным способами. В основе этих способов заложены режимы пита-

ния хлореллы органическим или неорганическим углеродом [15].

Стабильный рост и деление клеток зеленой микроводоросли происходит при определенных режимах излучения. Современная светотехническая аппаратура отличается широким разнообразием излучаемых спектров, которые способны повысить продуктивность аквакультуры. При этом рекомендации по выбору типа источника излучения и продолжительности его воздействия на культуру зеленой микроводоросли в настоящее время, по сути, отсутствуют в силу недостаточного уровня изученности данного вопроса.

Таким образом, цель данных научных исследований заключалась в изучении влияния полного спектра и естественно-го излучения на ростовые характеристики *Chlorella Vulgaris* ИФР №С-111.

Материалы и методы. Эксперимент по воздействию различных излучений выполняли в лаборатории сектора гидробиологии и мониторинга источников орошения ФГБНУ ВНИИОЗ в течение 2020 года.

Культивирование аквакультуры проводили в стеклянных колбах объемом 1 л на питательной среде, состав которой представлен в таблице 1, при температуре 28-32°C до прекращения деления клеток зеленой микроводоросли *Chlorella Vulgaris*.

В процессе культивирования хлореллы в течение суток проводили разовые

Таблица 1 – Состав и концентрация питательной среды [12]

Наименование компонента	Единицы измерения	Концентрация компонента
Аммиачная селитра	г/л	0,40
Простой суперфосфат	мл/л	0,50
Хлористое железо	мл/л	0,15
Азотнокислый кобальт	мл/л	0,10
Сернокислая медь	мл/л	0,10

подкормки CO₂ путем внесения настоя голозерного овса в объеме 15 мл/л.

Микроводоросль подвергали воздействию полного спектра и естественного (солнечного – контрольный вариант) излучений.

Достоверность опытов обеспечивали их трехкратной повторностью.

Количество клеток хлореллы в суспензии определяли методом прямого подсчета в счетной камере Горяева, представляющей предметное стекло с нанесенной сеткой. Подсчет клеток проводили в 5 горизонтальных и 15 диагональных больших квадратах под микроскопом с десятикратным увеличением. После подсчета клеток по квадратам их общее количество определяли по формуле [10]:

$$C = 12499 \cdot a \cdot b$$

где a – число клеток хлореллы в 20 квадратах;

b – степень разбавления

Результаты и обсуждение. Динамика роста и деления клеток *Chlorella Vulgaris* зависит не только от режима и компонентов питания, но и от условий культивирования, таких как температура, уровень освещенности и спектр источника излучения. Известные технологии производства аквакультуры, как правило, используют для освещения люминесцентные лампы [14], при этом максимальная продуктивность хлореллы составляет 51 млн кл./мл [7].

В работе [5] представлены результаты исследования поглотительной способности клеток хлореллы световых волн. Экстремумы, соответствующие максимальной эффективности фотосинтеза, приходятся на диапазон значений 420-450 нм (синий спектр) и 660-680 нм (красный спектр). С учетом этих данных, а также фотометрических характеристик современного светотехнического оборудования [6] источником излучения был выбран светодиод полного спектра, обеспечивающий необходимый диапазон и длину волн светового потока (рисунок 2).

Реализация эксперимента по оценке влияния полного спектра и естественного излучения на ростовые характеристики *Chlorella Vulgaris* (рисунок 3) позволила выявить следующие закономерности.

В течение первых 24 часов культивирования зеленой микроводоросли рост и деление клеток при воздействии обоих видов излучений носил слабовыраженный характер: с 5 млн кл./мл до 7 млн кл./мл под влиянием естественного из-

Рисунок 2 – Фотометрические показатели характеристики светодиода полного спектра

Рисунок 3 – Динамика деления клеток хлореллы при полном спектре и естественном излучениях

лучения и до 9 млн кл./мл при использовании светодиодов полного спектра.

На вторые сутки и в течение последующих 72 часов фиксировался активный прирост культуры до 45 млн кл./мл и 50 млн кл./мл соответственно в условиях естественного и полного спектра излучений.

По истечении 4 суток и далее процессы роста и деления клеток хлореллы замедлялись и носили практически линейный характер. Прибавка культуры в течение последующих 72 часов культивирования в обоих вариантах эксперимента составляла не более 10%.

Заключение. Эффективное выращивание *Chlorella Vulgaris*, помимо прочих условий, невозможно без поддержания необходимого светового режима. Для обеспечения оптимального светового режима рекомендуется использовать светодиод полного спектра, способный излучать длины волн в диапазоне значений 420-450 нм и 660-680 нм, и соблюдать период культивирования продолжительностью не более 5 суток.

Библиографический список

1. Водная стратегия Российской Федерации на период до 2020 года. Утверждена распоряжением Правительства Российской Федерации от 17 ноября 2008 г. №1662-р. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://docs.cntd.ru/document/902173350> (дата обращения: 01.09.2020).

Bibliographic list

1. Water strategy of the Russian Federation for the period up to 2020. Approved by the order of the Government of the Russian Federation of August 27, 2009 N 1235-r [Electronic resource]. – Access mode: <http://docs.cntd.ru/document/902173350> (access date 09.01.2020).

2. Ильин, В.И. Повышение эффективности работы очистных сооружений очистки поверхностных вод / В.И. Ильин // Экология промышленного производства. – 2011. – №4. – С. 56-58.

3. Кирилина, Т.В. Оценка эффективности доочистки сточных вод с использованием одноклеточных и многоклеточных гидробионтов / Т.В. Кирилина, До Тхи Ханг, А.С. Сироткин // Вестник Казанского технологического университета. – 2013. – №8. – С. 200-203.

4. Коротаева, А.Э. Оценка эффективности очистки карьерных вод от нитратов при помощи штамма *Clorella Vulgaris Beijer* / А.Э. Коротаева // Студент года 2019: сборник ст. междунар. науч.-исслед. конкурса, г. Петрозаводск, 17 ноября 2019 г. / Санкт-Петербургский горный университет [и др.]. – Петрозаводск, 2019. – Ч. 3. – С. 130-137.

5. Кругликова, Л.Л. Влияние фотометрических характеристик источника излучения на эффективность выращивания микроводоросли *Chlorella vulgaris* / Л.Л. Кругликова, Д.М. Савинова // Современные техника и технологии: сборник докладов XX междунар. науч.-практич. конф. студентов, аспирантов и молодых ученых, Томск, 14-18 апреля 2014 г. / Национальный исследовательский Томский политехнический университет [и др.]. – Томск, 2014. – С.135-136.

6. Лосев, Е.Д. Выбор оптимального источника освещения для жилых и производственных помещений / Е.Д. Лосев [и др.] // Труды Братского государственного университета. Серия: естественные и инженерные науки. – 2018. – Т. 1. – С. 214-220.

7. Мещерякова, Ю.В. Культивирование микроводорослей хлорелла / Ю.В. Мещерякова // Наука в центральной России. – 2013. – №2. – С. 56-60.

8. О состоянии и использовании водных ресурсов Российской Федерации в 2017: государственный доклад. – М.: НИА-Природа. – 2018. – 298 с.

9. О состоянии и об охране окружающей среды Российской Федерации в 2018: государственный доклад. – М.: Минприроды, 2019. – 844 с.

10. ОФС.1.7.2.0008.15 «Определение концентрации микробных клеток». – Минздрав РФ. – 2015. – 13 с.

11. Патент 1751981 Российская Федерация, МПК C12N 1/12. Штамм микроводоросли *Clorella Vulgaris* – продуцент биомассы / Н.И. Богданов; заявитель и патентообладатель: Институт зоологии и паразитологии имени Е.Н. Павловского. – № 874378916; заявл. 14.12.1987; опубл. 10. 02. 97. Бюл. №3.

12. Рязанов, А.В. Анализ эффективности работы городских очистных сооружений по ряду приоритетных загрязнителей / А.В. Рязанов, Н.В. Бучнева // Вестник Тамбовского университета. Серия: естественные и технические науки. – 2014. – №6. – С. 2028-2032.

13. Состояние и загрязнение окружающей среды в Российской Федерации за 2018 год: обзор. – М.: Росгидромет. – 2019. – 255 с.

14. Meng, Xu. Algae-facilitated chemical phosphorus removal during high-density *Chlorella emersonii* cultivation in a membrane bioreactor / Xu Meng, Matthew Bernards, Zhiqiang Hu // Bioresource Technology. – 2014. – Vol. 153. – P. 383-387.

15. Zhang, Jing. Gas production reveals the metabolism of *Chlorella vulgaris* during different trophic modes / Jing Zhang, Patrick Perre // Bioresource Technology. – 2020. – Vol. 315. – in press.

2. Ilyin, V.I. Improving the efficiency of treatment facilities for surface water treatment / V.I. Ilyin // Ecology of industrial production. – 2011. – No.4. – P. 56-58.

3. Kirilina, T.V. Evaluation of the efficiency of wastewater treatment using unicellular and multicellular hydrobionts / T.V. Kirilina, Do Thi Hang, A.S. Sirotkin // Bulletin of Kazan Technological University. – 2013. – No.8. – P. 200-203.

4. Korotaeva, A.E. Evaluation of the efficiency of purification of pit waters from nitrates using the *Clorella Vulgaris Beijer* strain / A.E. Korotaeva // Student of the Year 2019: Collection of Art. int. scientific research competition, Petrozavodsk, November 17, 2019 / St. Petersburg Mining University [et al.]. – Petrozavodsk, 2019. – Part 3. – P. 130-137.

5. Kruglikova, L.L. Influence of photometric characteristics of the source of treatment on the efficiency of growing the microalgae *Chlorella vulgaris* / L.L. Kruglikova, D.M. Savinova // Modern techniques and technologies: a collection of reports of the XX international. scientific-practical conf. students, graduate students and young scientists, Tomsk, April 14-18, 2014 / National Research Tomsk Polytechnic University [et al.]. – Tomsk, 2014. – P. 135-136.

6. Losev, E.D. The choice of the optimal light source for residential and industrial premises / E.D. Losev [et al.] // Proceedings of the Bratsk State University. Series: natural and engineering sciences. – 2018. – T. 1. – P. 214-220.

7. Meshcheryakova, Yu.V. Cultivation of *Chlorella* Microalgae / Yu.V. Meshcheryakova // Science in Central Russia. – 2013. – No.2. – P. 56-60.

8. On the state and use of water resources of the Russian Federation in 2017: state report. – M.: NIA-Nature. – 2018. – 298 p.

9. On the state and protection of the environment of the Russian Federation in 2018: state report. – M.: Ministry of Natural Resources of Russia. – 2019. – 844 p.

10. OFS.1.7.2.0008.15 "Determination of the concentration of microbial cells." – Ministry of Health of the Russian Federation. – 2015. – 13 p.

11. Patent 1751981 Russian Federation, IPC S12N 1/12. Microalgae strain *Clorella Vulgaris* – biomass producer / N.I. Bogdanov; applicant and patentee: Institute of Zoology and Parasitology named after E.N. Pavlovsky. – No.874378916; declared 12.14.1987; publ. 10. 02. 97. Bull. No3.

12. Ryazanov, A.V. Analysis of the efficiency of urban treatment facilities for a number of priority pollutants / A.V. Ryazanov, N.V. Buchnev // Bulletin of the Tambov University. Series: natural and technical sciences. – 2014. – No.6. – P. 2028-2032.

13. The state and pollution of the environment in the Russian Federation in 2018: an overview. – M.: Roshydromet. – 2019. – 255 p.

14. Meng, Xu. Algae-facilitated chemical phosphorus removal during high-density *Chlorella emersonii* cultivation in a membrane bioreactor / Xu Meng, Matthew Bernards, Zhiqiang Hu // Bioresource Technology. – 2014. – Vol. 153. – P. 383-387.

15. Zhang, Jing. Gas production reveals the metabolism of *Chlorella vulgaris* during different trophic modes / Jing Zhang, Patrick Perre // Bioresource Technology. – 2020. – Vol. 315. – in press.

Дополнительные сведения об авторах:

Андрей Евгеньевич Новиков, врио директора, ae-novikov@mail.ru,

Максим Игоревич Филимонов, младший научный сотрудник отдела оросительных мелиораций, maks.filimonov.1986@mail.ru,

Алексей Юрьевич Торопов, научный сотрудник отдела оросительных мелиораций,

Мария Викторовна Фролова, старший научный сотрудник отдела оросительных мелиораций, mikkinfm@gmail.com

Additional information about the authors:

Andrey Evgenievich Novikov, interim director, ae-novikov@mail.ru,

Maksim Igorevich Filimonov, junior researcher of the department of irrigation and reclamation, maks.filimonov.1986@mail.ru,

Alexey Yurievich Toropov, researcher of the department of irrigation and reclamation,

Maria Viktorovna Frolova, senior researcher of the department of irrigation and reclamation, mikkinfm@gmail.com