

КОНСТРУЮВАННЯ ФОТОБІОРЕАКТОРА ДЛЯ КУЛЬТИВУВАННЯ *DESMODESMUS ARMATUS* (CHOD.) HEGEW

К. В. БОЙКО, Л. М. ЧЕБАН

Чернівецький національний університет
вул. Коцюбинського, 2, Україна, 58012,
e-mail: l.cheban@chnu.edu.ua

*Робота присвячена розробці моделі лабораторного фотобіореактора для культивування зеленої водорості *Desmodesmus armatus* (Chod.) Hegew. За основу створення моделі обрано тип циліндричного трубчастого біореактора, з внутрішнім освітленням LED-спектром. Каркас конструкції зроблений з ДВП та оброблений водостійким акриловим лаком. Готова конструкція набула таких габаритних розмірів: габаритна висота реактора – 393 мм, габаритний діаметр об'єкту – 162 мм, габаритна ширина – 158 мм. Собівартість моделі становить 843 грн. Розроблена модель дозволяє отримати близько 3 л суспензійної культури водоростей. Модель апробована для вирощування *D. armatus* – продуцента біокумісу. Даний вид розглядається як перспективний кормовий організм в аквакультури. Для порівняння *D. armatus* вирощували також у періодичній закритій системі та відкритій системі. В процесі культивування, кожну добу, контролювали рН середовища, температуру та кількість біомаси. За умов вирощування в біореакторі кількість біомаси *D. armatus* у 5-8 разів перевищують показники біомаси за умов вирощування в періодичній закритій та відкритій системах.*

*Ключові слова: фотобіореактор, конструювання, мікроводорості, біомаса, *Desmodesmus armatus* (Chod.) Hegew*

Вступ. Процес культивування мікроводоростей – складний процес, що потребує контролю для підтримки фізико-хімічних параметрів в межах оптимуму, з метою підвищення продуктивності альгокультур. Вирішенням цієї проблеми може стати залучення фотобіореакторів для культивування мікроводоростей (Singh and Sharma, 2012; Aleya et al., 2011).

Продуктивність культивування біомаси у фотобіореакторах залежить від тісного узгодження культурального середовища з потребами вибраного штаму водоростей. Світло, темрява, якість та обмеження світла, фотоперіод, температура, опромінення є важливим фактором росту водоростей, розмноження, а також накопичення у біомасі водоростей цільових продуктів (Acién et al., 1999; Schnurr and Allen, 2015; Ugwu, 2005).

Деякі фактори навколишнього середовища, наприклад температура та запаси поживних речовин відносно легко контролюються. Проте інші, такі як подача сонячної радіації, регулюються важче.

Зміна умов вирощування має прямий вплив на продуктивність росту та розвитку мікроорганізмів у фотобіореакторі (Liao et al., 2015; Ugwu et al., 2005). Регулюючи умови культивування, є можливість спрямувати досліду культуру на посилений синтез необхідних речовин (Molina et al., 1999).

При культивуванні водоростей у фотобіореакторі критичними показниками є зміни рН, температури, освітлення та агітація біомаси водоростей (Butterwick et al., 2004; Ugwu et al., 2005).

Більшість видів мікроводоростей добре ростуть у діапазоні рН 8,2–8,7. При вирощуванні мікроводоростей з високою щільністю посадки використовуючи аерацію газами з високим вмістом CO₂ або з чистого CO₂. Все це може призвести до коливань рН середовища (Huang et al., 2017; Kumar et al., 2011; Laurinavichene et al., 2008).

Для фіксації CO₂ та виробництва біомаси необхідна оптимальна інтенсивність світла. При значенні показника нижче оптимального світло стає обмежуючим фактором продуктивності водоростей. Вплив тривалого фотоперіоду на клітини з високою інтенсивністю світла спричиняє фотоінгібування через пошкодження механізму відновлення фотосистеми II, що призводить до інактивації інших систем (Ozkan et al., 2012; Singh and Singh, 2015). Також інтенсивність світла на глибині щільної суспензії водоростей значно знижується через його поглинання та розсіювання. Зменшення інтенсивності світла залежить від його довжини хвилі, концентрації клітини, відстані проникнення світла та вибраного фотобіореактора. Оскільки синє та червоне світло в основному споживається мікроводоростями, воно проникає в глиб суспензії водоростей менше, ніж зелене. Цей ефект більш виражений у щільній культурі. З інженерної точки зору вибір ФБР дозволяє збільшити ефективність проникнення світла у суспензію мікроводоростей (Hamed, 2016; Ozkan et al., 2012).

Агітація є вирішальною особливістю у вирощуванні мікроводоростей. Вона може не тільки знизити рН та градієнт температури в реакторі, але й запобігти осіданню клітин, появі мертвих

зон, скупчення клітин та прикріплення клітин до стінок ФБР (Sato et al., 2006). Крім того, змішування гарантує, що всі клітини однаково піддаються впливу світла. Однак надмірне змішування може призвести до пошкодження клітин і призвести до загибелі культури (Serón-García, 2002; Rubio et al., 2002).

Змішування в фотобіореакторах зазвичай забезпечується аерацією газовими бульбашками, збагаченими CO₂, або перекачуванням за допомогою насосів, механічним перемішуванням за допомогою крильчаток або мішалок або комбінацією цих способів (Huang et al., 2017; Ugwu et al., 2008). Змішування також регулює сприятливий періодичний цикл світла/темряви, шляхом транспортування клітин мікроводоростей між світловою та темною зонами. Вважається, що цикли світла/темряви позитивно змінюють темпи росту фотосинтетичних клітин (Pegallapati et al., 2012).

У зв'язку з достатньо високою ціною на дані установки та їх необхідність у процесах культивування перспективних видів мікроводоростей, актуальною є розробка моделей фотобіореакторів ціленаправлено під вирощування певної культури мікроводоростей.

Тому метою роботи є створення робочої моделі фотобіореактора для культивування *Desmodesmus armatus* (Chod.) Hegew.

Матеріали та методи. Матеріалом для нашого дослідження стала альгологічно чиста культура *Desmodesmus armatus* (Chod.) Hegew. Першочергово отримана з колекції (IBASH-A) Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України. Культура підтримується у колекції мікроводоростей та ціанобактерій Інституту біології, хімії та біоресурсів Чернівецького національного університету імені Юрія Федьковича.

Ценобії *D. armatus* складаються з 2-4 (деколи з 8) клітин, лінійні. Клітини циліндричні, еліпсоїдні, із заокругленими кінцями, часто можуть мати до трьох дуже маленьких зубчиків на обох боках клітини. Розмір клітини складає 13x6,5 мкм (Guiry and Guiry, 2020). Цей вид протококових водорос-

тей внаслідок невеликих розмірів може використовуватися в аквакультурі, як кормовий об'єкт.

Розробивши креслення фотобіореактора, було сконструйовано робочу модель місткістю 3,3 л. Водорості у фотобіореакторі вирощували на середовищі Тамія. Середовище перед використанням стерилізували далі охолоджували та заливали у фотобіореактор. Для ініціації культури вносили інокулят альгологічно чистої культури *D. armatus* у співвідношенні до живильного середовища 1 x 10.

Культивування у фотобіореакторі проводили в умовах 16-ти годинного фотоперіоду, при освітленні LED лампою, а температурі $22 \pm 2^\circ\text{C}$. Культивування тривало 40 діб для встановлення оптимальної тривалості. Паралельно за тих же фізико-хімічних параметрів проводили культивування у періодичній закритій системі (колба об'ємом 1000 мл) та відкритій системі (акваріум об'ємом 30 л).

У процесі культивування кожену добу контролювали рН та температуру живильного середовища (WaterproofpH-Temp).

Густина культури мікроводоростей визначали спектрофотометрично за опосередкованим оптичним показником при 750 нм на спектрофотометрі. Для розрахунку абсолютно сухої біомаси (АСБ) застосовували емпіричний коефіцієнт k : $\text{АСБ} = k \times D_{750}$, який визначали для кожної з культур мікроводоростей у трьох незалежних повторях. $k = \text{г/л/од.опт.густини}$. Для культури *D. armatus* коефіцієнт перерахунку становить $k = 15,62 \text{ г/л/од.опт.густини}$.

Результати та їх обговорення. Опрацювавши літературні дані та врахувавши наші потреби для культивування мікроводоростей було спроектовано та виготовлено власну робочу модель фотобіореактора. Найбільше нашої меті відповідала модель циліндричного трубчатого фотобіореактора, з внутрішнім освітленням та перемішуванням за рахунок барботації (Oncel and Kose, 2014; Fernandes et al., 2010). За основу ємності для культивування було обрано скляну циліндричну колбу ємністю 3,3 л (табл. 1.).

Таблиця 1.

Table 1.

Технічні характеристики моделі фотобіореактора

Technical characteristics of the photobioreactor model

Параметри	Критерії
Габаритна висота	393 мм
Габаритний діаметр	162 мм
Габаритна ширина	158 мм
Висота резервуару	300 мм
Діаметр резервуару	120 мм
Висота колби внутрішньої ілюмінації	205 мм
Діаметр внутрішньої колби	20 мм
Верхні та нижні допоміжні елементи конструкції однакові, висота кожного	65 мм
Ширина кожного сегмента	62 мм

Було вирішено як матеріал для каркасних конструкцій використати ДВП як матеріал вторинної переробки деревини. Це дешевий та доволі міцний матеріал. Для уникнення набухання в процесі експлуатації дерев'яні деталі конструкції були покриті водостійким акриловим лаком в два шари.

Було розроблено робоче креслення моделі фотобіореактора та проаналізовано матеріал його виготовлення (рис. 1.).

Для ілюмінації нашого фотобіореактора було розглянуто 4 можливі варіанти джерел світла: LED, флуоресцентне, розжарювання, сонячне світло. При виборі освітлення ми звернули увагу на довжину хвиль джерел світла та спектр його поглинання хлорофілом *a* та *b* відповідно. Дані,

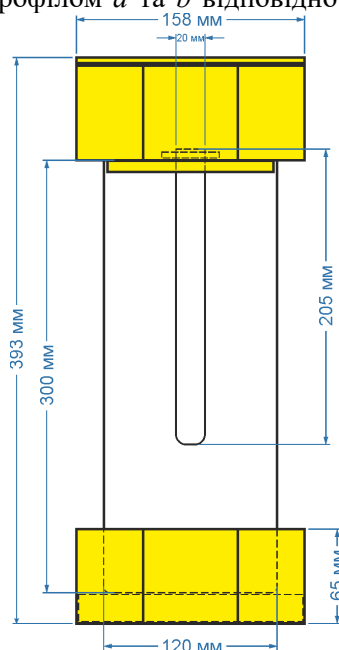


Рис. 1. Креслення робочої моделі фотобіореактора для культивування *D. armatus*

отримані з літературних джерел (Skjånes et al., 2016; Singh and Singh, 2015; Slegers et al., 2013), систематизували у вигляді діаграми на якій видно, що LED світло є найкращим вибором (рис. 2.).

Для барботування середовища використовували повітряну суміш з концентрацією CO₂ 0,03-0,04 %. Шляхом барботування також забезпечували перемішування середовища культивування. Також передбачили контроль рН середовища культивування шляхом занурення портативного рН-метра з додатковою функцією вимірювання температури культивування.

Собівартість створеної моделі фотобіореактора не перевищувала 850 грн (табл. 2.).

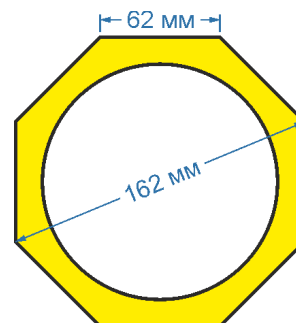


Fig. 1. Drawing of a working model of a photobioreactor for cultivation of *D. armatus*

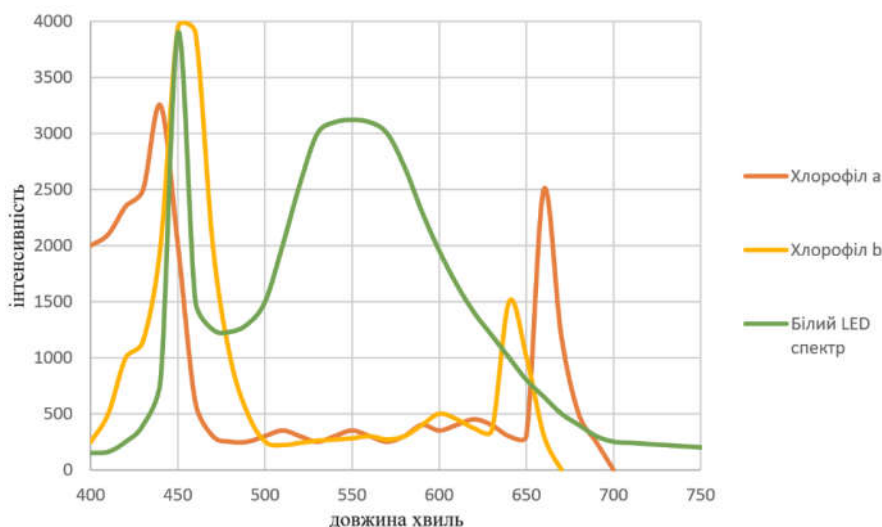


Рис. 2. Порівняльні характеристики поглинання світла LED-лампи та хлорофілу

Fig. 2. Comparative characteristics of light absorption of LED lamp and chlorophyll

Таблиця 2.

Собівартість створеної моделі фотобіореактора

Table 2.

The cost of the created model of the photobioreactor

Компоненти	Ціна, грн
Скляна циліндрична колба	210
Скління трубка ²	20
Компресор	160
Трубка для подачі повітря	10
LED-стрічка	16
Перемикач	20
Таймер	117
Трансформатор	130
Кліпса для приєднання LED-стрічки	20
Електричний шнур з вишкою	40
Матеріал для виготовлення каркасних конструкцій (ДВП)	100
Сума	843

Отже, нами розроблена та сконструйована модель лабораторного фотобіореактора, яка дозволить забезпечити культивування близько 3 л суспензії мікробіодоростей.

Створену модель фотобіореактора ми апробували для вирощування зеленої водорості *D. armatus*. Першочергово ми аналізували зміни рН та температури в процесі вирощування водорості. Також контролювали оптичну густину суспензії як опосередкований показник накопичення біомаси у культурі оноклітинних мікробіодоростей.

Відмічено, що в процесі вирощування *D. armatus* температура коливалася в межах від 21-23 °С, що відповідає оптимальним температурним показникам для культивування водоростей (рис. 3.). Це дозволяє не залучати додаткових технічних засобів для регуляції температури в фотобіореакторі. Очевидно, що створюються збалансовані температурні умови за рахунок освітлення емкості для

культивування та інтенсивних фізіолого-біохімічних реакцій у біомасі водоростей.

Показники рН культурального середовища коливалися у межах 7,9 – 8,4. Хоча не було встановлено прямих залежностей, очевидно цей процес залежав від рівня виснаження живильного середовища, накопичення кінцевих продуктів обміну та інтенсивністю барботування культури.

Під час всього періоду культивування *D. armatus* проводилося вимірювання оптичної густини культуральної рідини. Вимірювання проводили з періодичністю в 3 дні. Для оцінки ефективності застосування даного фотобіореактора було прийнято рішення порівнювати отримані результати з результатами культивування у періодичній закритій системі та у відкритій системі (акваріумі) (рис. 4.). Не зважаючи на об'єми застосованих підходів культивування, всі результати представлені у розрахунку г/л біомаси.

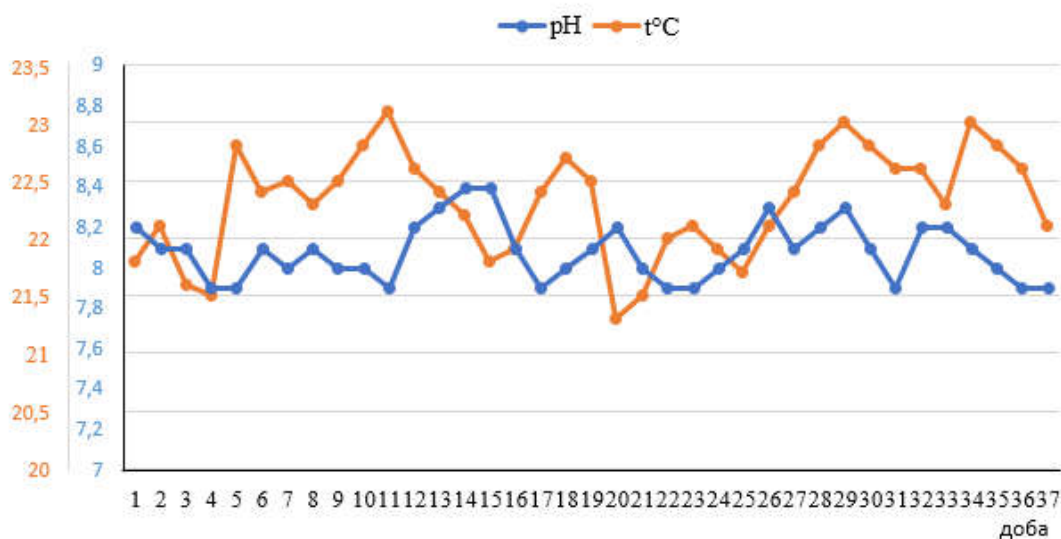


Рис. 3. Показники рН та температури у середовищі культивування *D. armatus* у фотобіореакторі

Fig. 3. Indicators of pH and temperature in the culture medium of *D. armatus* in a photobioreactor

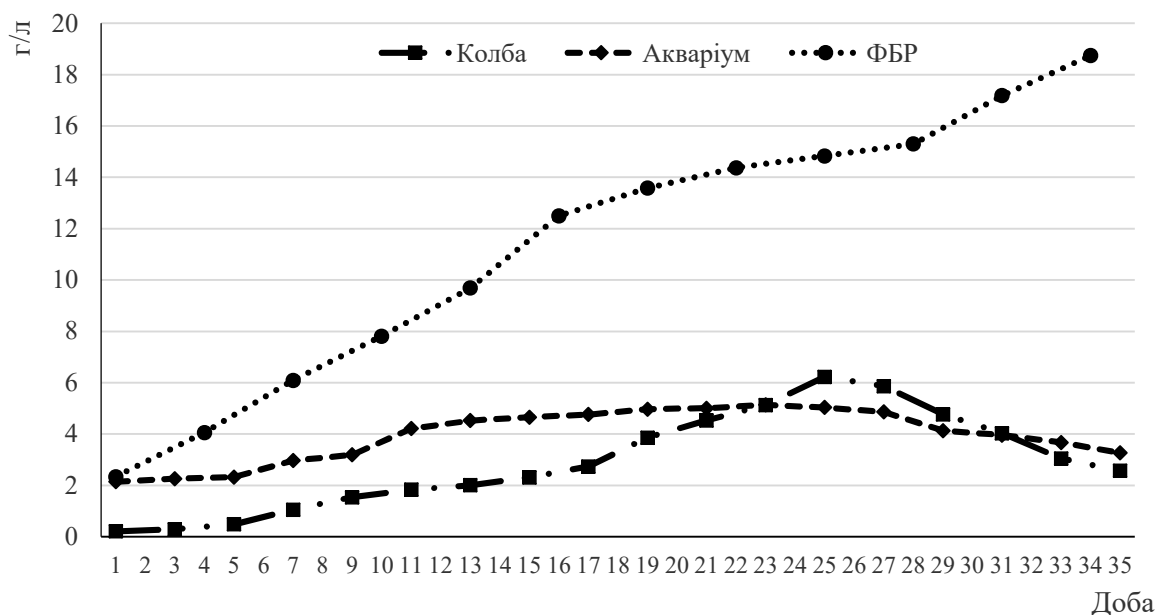


Рис. 4. Кількість біомаси *D. armatus* в динаміках культивування у різних системах

Fig. 4. The amount of biomass of *D. armatus* in the dynamics of cultivation in different systems

Показники кількості біомаси, вирощеної в фотобіореакторі, в 3 (середина культивування) та 5 (завершення культивування) разів перевищують такі за умов культивування в періодичній закритій системі та у відкритій системі (акваріум). Розроблена модель фотобіореактора за 24 доби культивування дозволяє отримати біомасу *D. armatus* у кількості 16 г/л, що 5-8 разів перевищує результати за інших типів культивування.

Різницю в даних можна пояснити рівномірним освітленням та перемішуванням культури. Шляхом барботування системи відбувається активне перемішування культуральної рідини, що дозволяє світлу повноцінно освітити всю біомасу вирощуваних клітин. Також варто зазначити, що барботування позитивно впливає на ріст клітин шляхом постійного омивання поживним середовищем, тим самим оновлюючи його та надаючи вільний доступ до поживних речовин всім клітинам, які знаходяться в даній культуральній рідині. Це, без сумніву, є основною перевагою застосування фотобіореактора для вирощування водоростей.

Висновки.

Розроблено власну модель фотобіореактора з габаритними розмірами: габаритна висота реактора – 393 мм., габаритний діаметр об'єкту – 162 мм., габаритна ширина – 158 мм. Собівартість розробленої установки становить 843 грн.

Підібрано параметри для контролю культивування виду водоростей *D. armatus* в умовах ФБР: межі температурного оптимуму становлять $22 \pm 2^\circ\text{C}$, а оптимуму pH – 8 ± 1 .

Показники кількості біомаси *D. armatus*, вирощеної в фотобіореакторі, у 5-8 разів перевищують показники біомаси за умов вирощування в періодичній закритій та відкритій системах.

Моделювання та проектування власної системи ФБР є доступним та вигідним, адже протестована модель показує не тільки високі показники виходу біомаси, на відміну від відкритої та закритої періодичної системи культивування, а й є відносно дешевою, порівняно з ринковими моделями фотобіореакторів.

Список літератури:

1. Ación Fernández FG, García Camacho F, Chisti Y. Photobioreactors: light regime, mass transfer, and scaleup. *Progress in Industrial Microbiology*. 1999; 35: 231–247.
2. Aleya L, Dauta A, Reynolds CS. Endogenous regulation of the growth-rate responses of a spring-dwelling strain of the freshwater alga, *Chlorella minutissima*, to light and temperature. *European Journal of Protistology*. 2011; 47(4): 239–244.
3. Butterwick C, Heaney Si, Talling Jf. Diversity in the influence of temperature on the growth rates of freshwater algae, and its ecological relevance. *Freshwater Biology*. 2004; 50: 291–300.
4. Cerón-García, M.C. and Camacho, Francisco and Molina-Grima, Emilio and Chisti, Yusuf. Growth and biochemical characterization of microalgal biomass produced in bubble column and airlift photobioreactors: studies in fed-batch culture. *Enzyme and Microbial Technology*. 2002; 31: 1015–1023.
5. Fernandes BD, Dragone GM, Teixeira JA, Vicente AA. Light Regime Characterization in an Airlift Photobioreactor for Production of Microalgae with High Starch Content. *Appl Biochem Biotechnol*. 2010; 161: 218–226.

6. Guiry M.D., Guiry G.M. AlgaeBase World-wide electronic publication. *National University of Ireland*. 2020.
7. Hamed I. The Evolution and Versatility of Microalgal Biotechnology. *Comprehensive reviews in food science and food safety*. 2016; 15: 1104–1123.
8. Huang Q, Jiang F, Wang L, Yang C. Design of Photobioreactors for Mass Cultivation of Photosynthetic Organisms. *Engineering*. 2017; 3: 318–329.
9. Kumar K, Dasgupta CN, Nayak B, Lindblad P, Das D. Development of suitable photobioreactors for CO₂ sequestration addressing global warming using green algae and cyanobacteria. *Bioresource Technology*. 2011; 102: 4945–4953.
10. Laurinavichene T, Kosourov S, Ghirardi M, Seibert M, Tsygankov A. Prolongation of H₂ photoproduction by immobilized, sulfur-limited *Chlamydomonas reinhardtii* cultures. *Journal of Biotechnology*. 2008.
11. Liao Q, Zhong N, Zhu X, Huang Y, Chen R. Enhancement of hydrogen production by optimization of biofilm growth in a photobioreactor. *International Journal of Hydrogen Energy*. 2015; 40: 4741–4751.
12. Molina Grima, E, F G Acien Fernández, F García Camacho, i Yusuf Chisti. Photobioreactors: light regime, mass transfer, and scaleup. *Journal of Biotechnology*. 1999; 70: 231–247.
13. Oncel S, Kose A. Comparison of tubular and panel type photobioreactors for biohydrogen production utilizing *Chlamydomonas reinhardtii* considering mixing time and light intensity. *Bioresource Technology*. 2014; 151: 265–270.
14. Ozkan A, Kinney K, Katz L, Berberoglu H. Reduction of water and energy requirement of algae cultivation using an algae biofilm photobioreactor. *Bioresource Technology*. 2012; 114: 542–548.
15. Pegallapati AK, Arudchelvam Y, Nirmalakhandan N. Energy-efficient photobioreactor configuration for algal biomass production. *Bioresource Technology*. 2012; 126: 266–273.
16. Rubio FC, Camacho FG, Sevilla JMF, Chisti Y, Grima EM. A mechanistic model of photosynthesis in microalgae. *Biotechnology and Bioengineering*. 2002; 81(4): 459–473.
17. Sato T, Usui S, Tsuchiya Y, Kondo Y. Invention of outdoor closed type photobioreactor for microalgae. *Energy Conversion and Management*. 2006; 47(6): 791–799.
18. Schnurr PJ, Allen DG. Factors affecting algae biofilm growth and lipid production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2015; 52: 418–429.
19. Singh RN, Sharma S. Development of suitable photobioreactor for algae production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2012; 16(4): 2347–2353.
20. Singh SP, Singh P. Effect of temperature and light on the growth of algae species. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2015; 50: 431–444.
21. Skjånes K, Andersen U, Heidorn T, Borgvang SA. Design and construction of a photobioreactor for hydrogen production, including status in the field. *Journal of Applied Phycology*. 2016; 28(4): 2205–2223.
22. Slegers PM, van Beveren PJM, Wijffels RH, van Straten G, van Boxtel AJB. Scenario analysis of large scale algae production in tubular photobioreactors. *Applied Energy*. 2013; 105: 395–406.
23. Ugwu CU, Aoyagi H, Uchiyama H. Photobioreactors for mass cultivation of algae. *Bioresource Technology*. 2008; 99(10): 4021–4028.
24. Ugwu CU, Ogbonna JC, Tanaka H. Light/dark cyclic movement of algal culture (*Synechocystis aquatilis*) in outdoor inclined tubular photobioreactor equipped with static mixers for efficient production of biomass. *Biotechnology Letters*. 2005; 27(2): 75–78.

DESIGN OF PHOTOBIOREACTOR FOR CULTIVATION DESMODESMUS ARMATUS (CHOD.) HEGEW

K. V. Boiko, L.M. Cheban

*The work is devoted to the development of the model of a laboratory photobioreactor for the cultivation of green algae *Desmodesmus armatus* (Chod.) Hegew. The type of cylindrical tubular bioreactor with internal LED spectrum illumination was chosen as the basis for creating the model. The frame is made of fiberboard and treated with waterproof acrylic varnish. The finished structure has the following dimensions: overall height of the reactor - 393 mm., overall diameter of the object - 162 mm., overall width - 158 mm. The cost of the model is UAH 843. The developed model allows to receive about 3 l of suspension culture of seaweed. The model was tested for growing *D. armatus* - a producer of protein-containing biomass. This species is considered as a promising forage organism in aquaculture. For comparison, *D. armatus* was also grown in a periodic closed system and an open system. During cultivation, the pH of the medium, temperature and amount of biomass were monitored every day. Under the conditions of cultivation in the bioreactor, the amount of biomass of *D. armatus* is 5-8 times higher than the biomass under the conditions of cultivation in periodic closed and open systems.*

*Keywords: photobioreactor, construction, microalgae, biomass, *Desmodesmus armatus* (Chod.) Hegew*

Отримано редколегією 11.08.2021