

УДК 579.582.26/27:581.143

Р.Г. ГЕВОРГИЗ¹, А.Б. БОРОВКОВ¹, А.В. ШИРЯЕВ²

¹ Ин-т биологии южных морей им. А.О. Ковалевского НАН Украины,

99011 Севастополь, пр. Нахимова, 2, Украина, e-mail: spirit2000@ua.fm

² Черноморский филиал Московского госуниверситета им. М.В. Ломоносова,

99011 Севастополь, ул. Героев Севастополя, 7, Украина

МОДЕЛЬ ОПТИМИЗАЦИИ РЕЖИМА КУЛЬТИВИРОВАНИЯ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ В ХЕМОСТАТЕ НА ПРИМЕРЕ *DUNALIELLA SALINA* TEOD.

Разработана математическая модель роста микроводорослей в условиях хемостата (в рамках линейного роста). Показано, что при непрерывном выращивании микроводорослей максимальный урожай достигается при включении протока в начале линейной фазы роста, при максимальной величине удельной скорости протока среды (в рамках линейного роста).

Ключевые слова: *Dunaliella salina*, хемостат, математическая модель, урожай.

Введение

Производство биомассы микроводорослей, как источника целого ряда полезных веществ, занимает одно из центральных мест в современной биотехнологии (Zilberman, Caswell, 2000). На сегодняшний день для выращивания микроводорослей разработано огромное количество разнообразных установок и рекомендаций по способам культивирования (Acien Fernandez et al., 1997; Borowitzka, 1999; Ogbonna, 2000; Garcia-Gonzalez et al., 2003). Как правило, такие рекомендации разрабатываются для конкретного производства и при организации нового аналогичного производства всегда требуются доработки и уточнения. При разработке технологий культивирования микроводорослей чаще всего исследователю приходится решать задачи оптимизации по какому-либо критерию. Наиболее важным является критерий производительности будущей системы культивирования, режима культивирования и качества биомассы. Для разработки режимов культивирования обычно прибегают к моделированию всего технологического процесса с учетом специфики объекта культивирования (Enes, Saraiva, 1996). Для строго управляемой культуры (Белянин и др., 1982) можно создать достаточно точное математическое описание всего процесса, однако организация таких условий (стабилизация освещенности, температуры, минерального питания) требует специального оборудования и значительных капиталовложений. При выращивании микроводорослей в стандартной сельскохозяйственной теплице, в культиваторах открытого типа (бассейнах), когда одним из немногих управляющих факторов является удельная скорость протока среды (освещенность, температура колеблется естественным образом), при разработке режима культивирования приходится опираться на простейшие модели, т.к. они учитывают наиболее значимые параметры.

© Р.Г. Геворгиз, А.Б. Боровков, А.В. Ширяев, 2007

Цель работы – на примере галобной зеленой микроводоросли *Dunaliella salina* Teod. разработать математическую модель, на основе которой можно рассчитать оптимальные значения удельной скорости протока среды и момента включения протока для достижения максимальной величины урожая в непрерывной культуре.

Материалы и методы

Объектом исследования служила зеленая галобная микроводоросль *Dunaliella salina* из коллекции культур ИнБИОМ НАНУ.

Работа выполнена на базе предприятия «Кайлас» (Крым) в июне 2004 г. Культиватором служил прямоугольный бассейн 2 × 2,5 м из пищевой полиэтиленовой пленки толщиной 150 мкм, уложенной на выровненную поверхность грунта и закрепленной на ограждающих конструкциях с помощью деревянных планок. В работе использовали модифицированную питательную среду Тренкеншу (Тренкеншу, Белянин, 1979) (см. таблицу).

Таблица. Модифицированная среда Тренкеншу

Компонент	Навеска, г·л ⁻¹
Морская соль	60
KNO ₃	2,139
KH ₂ PO ₄ × 7H ₂ O	0,365
Na ₂ EDTA	0,040
FeSO ₄ × 7H ₂ O	0,040
MnCl ₂ × 4H ₂ O	0,0040
CoCl ₂ × 6H ₂ O	0,0031
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ × 4H ₂ O	0,0009
K ₂ Cr ₂ (SO ₄) ₄ × 24H ₂ O	0,0017

Для приготовления питательной среды использовали пресную воду из скважины, расположенной на территории предприятия. Источником NaCl, MgSO₄, CaCl₂ в среде служила морская соль. Культиватор размещали в стандартной стеклянной теплице для выращивания сельскохозяйственных культур. В эксперименте водоросли выращивали при естественном освещении методом накопительных культур. Максимальная освещенность в географический полдень (12-30) достигала 110 клк. Суточная температура суспензии колебалась в пределах 18-28 °С. Объем суспензии в культиваторе составлял 250 л, при высоте слоя 5 см. Этот объем поддерживали на протяжении всего эксперимента, доливая пресную воду до отметки 5 см. Культуру постоянно перемешивали с помощью аквариумного электронасоса «Струмок». Суспензию микроводорослей барботировали с помощью аквариумного компрессора «Maxima» производительностью 4,8 л·мин⁻¹.

Ежедневно измеряли pH среды с помощью pH-метра 150М, оптическую плотность при длине волны 750 нм, используя концентрационный фотозлектроколориметр КФК-2, и температуру. Переход от единиц оптической плотности (D_{750}) к величине абсолютно сухого веса биомассы (АСВ) осуществляли посредством эмпирического коэффициента $k = 0,78 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1} \cdot \text{ед. опт. пл.}^{-1}$, $\text{АСВ} = k \times D_{750}$.

Модель

Производительность, как характеристика системы культивирования, непосредственно определяется скоростью роста микроводорослей. В свою очередь, скорость роста зависит от биологических особенностей вида водорослей и ряда физико-химических условий культивирования. Чтобы выявить характеристики роста микроводорослей, выращенных в конкретном культиваторе при заданных условиях, достаточно проследить динамику роста (накопительная кривая) (Тренкеншу, 2005). На основе формы этой кривой легко установить две наиболее важные характеристики различных фаз роста: продуктивность и удельную скорость роста — именно они вместе с величиной самой биомассы определяют производительность системы культивирования. В данной работе все расчеты режима культивирования микроводорослей основаны на теории хемостата (Уильямсон, 1975). Этот режим предпочтительнее из-за простоты реализации на практике.

Следующим шагом является выбор начального условия, т.е. момента включения протока, который бы привел к максимальным показателям величины урожая по окончании процесса культивирования. Выбор лежит между логарифмической и линейной фазами роста, тогда как другие, учитывая нашу задачу, не подлежат рассмотрению. Из этих двух фаз линейная более предпочтительна по следующим причинам: 1) в реальности длительный логарифмический рост микроводорослей наблюдается крайне редко; 2) линейная фаза характеризуется величиной максимальной продуктивности, которая постоянна для любой точки линейного роста. Кроме того, на линейном участке, в отличие от логарифмического, продуктивность не зависит от плотности культуры; 3) состояние динамического равновесия (равенство удельной скорости протока и удельной скорости роста) при включении протока на линейном участке обладает свойством устойчивости, т.е. любое случайное отклонение от стационарного состояния по плотности приведет к переходному процессу, который возвратит культуру к исходному состоянию; 4) плотность культуры в любой точке линейной фазы выше в сравнении с логарифмической. Это означает, что культура на линейной фазе роста, с одной стороны, более эффективно использует свет, что весьма актуально особенно в пасмурные дни, с другой — получение одинаковых показателей по урожаю на линейной фазе роста, по сравнению с логарифмической, требует меньшей скорости протока. Меньший объем сливаемой суспензии в значительной мере снижает расход питательных сред и усилия по сбору урожая, что является неопределимым преимуществом с экономической точки зрения.

Будем считать урожаем ту биомассу, которая выносятся с протоком. Кроме того, все изложенное ниже предполагает линейность роста микроводорослей без учета адаптационных и автоселекционных процессов. Приведем основные выражения для линейной фазы (Тренкеншу, 2005).

Динамика плотности культуры в пределах линейной фазы роста:

$$B = P_m \cdot (t - t_l) + B_l, \quad (1)$$

где B – биомасса, $г \cdot м^{-2}$; $P_m = const$ – максимальная продуктивность, $г \cdot м^{-2} \cdot сут^{-1}$; t – время, сут; B_l – биомасса в начале линейной фазы роста, т.е. при $t = t_l$.

Динамика плотности культуры в хемостате (в рамках линейного роста):

$$B = \frac{P_m}{\omega} - \left(\frac{P_m}{\omega} - B_0 \right) \cdot e^{-\omega(t - t_0)}, \quad (2)$$

где ω – удельная скорость протока, $сут^{-1}$; B_0 – биомасса в момент включения протока t_0 ; $B_l \leq B_0 \leq B$, B – биомасса в конце линейного роста при t .

Рассматривая стационарный процесс с учетом выражения (2), можно утверждать, что плотность культуры определяется двумя величинами: продуктивностью и удельной скоростью протока (Геворгиз, Боровков, 2005). В условиях стационарного процесса урожай равен произведению продуктивности и времени культивирования. Поэтому величина урожая не зависит от рабочей плотности культуры, т.е. варьируя величиной ω , мы можем изменить плотность культуры, но это никак не отразится на величине урожая.

Для любых переходных процессов плотность культуры будет функцией от времени. Скорость выноса биомассы определяется произведением удельной скорости протока и плотности культуры, поэтому с учетом (2) имеем:

$$v_B = \omega \cdot B(t) = P_m - (P_m - \omega \cdot B_0) \cdot e^{-\omega(t - t_0)}. \quad (3)$$

При фиксированном значении ω точка включения протока (B_0 , t_0) и отрезок времени $[t_0, t_f]$ определяют величину урожая:

$$Y = \int_{t_0}^{t_f} \{P_m - [P_m - \omega \cdot B_0] \cdot e^{-\omega(t - t_0)}\} dt = (t_f - t_0) \cdot P_m - \left(\frac{P_m}{\omega} - B_0 \right) \cdot [1 - e^{-\omega(t_f - t_0)}]. \quad (4)$$

Момент включения протока $t_{опт}$, определяющий максимальный урожай при фиксированном ω , можно определить из условия равенства нулю производной по t_0 выражения (4). Учитывая выражение

$$B_0 = P_m \cdot (t_0 - t_l) + B_l, \quad (5)$$

получим уравнение:

$$\frac{dY}{dt_0} = [-\omega \cdot B_l - \omega \cdot P_m \cdot (t_0 - t_l)] \cdot e^{-\omega(t-t_0)} = 0$$

Отсюда
$$t_0 = t_{opt} = t_l - \frac{B_l}{P_m} \quad (6)$$

Поскольку $t_{opt} < t_l$, ясно, что оптимальное значение момента включения протока лежит за пределами линейной фазы роста (рис. 1). На линейном участке накопительной кривой функция $Y = Y(t_0)$ убывает. Следовательно, момент включения протока, соответствующий максимальному урожаю, совпадает с моментом начала линейного роста. Заметим, точка начала линейного роста характеризуется максимальной продуктивностью и максимальной удельной скоростью роста микроводорослей.

Величины ω и B_0 в выражении (4) определены в промежутках $B_l \leq B_0 \leq B_l^*$, т.е. ограничены минимальной и максимальной плотностью культуры в рамках линейного роста. Соответственно, удельная скорость протока будет ограничена пределами

$$\frac{P_m}{B_l} \leq \omega \leq \frac{P_m}{B_l^*} \quad \text{или} \quad \omega_{max} \leq \omega \leq \omega_{min}$$

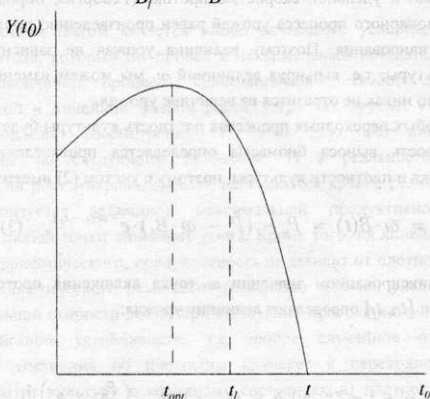


Рис. 1. Зависимость величины урожая Y от момента включения протока.

что дает четыре замечательных случая в выборе режима культивирования с различными удельной скоростью протока и начальной биомассой, два из которых — стационарное динамическое состояние (рис. 3). При максимальной удельной скорости протока

проведем сравнение между двумя случаями: 1) проток включен в начале линейного роста t_1 ; 2) проток включен в конце линейного роста t' . Выражение (4) принимает соответствующий данным случаям вид:

$$Y(t_0 = t_1, \omega = \frac{P_m}{B_1}) = (t_f - t_1) \cdot P_m \quad (7.1)$$

$$Y(t_0 = t', \omega = \frac{P_m}{B_1}) = (t_f - t') \cdot P_m + (B' - B_1) \cdot \left[1 - e^{-\frac{P_m}{B_1}(t_f - t')} \right]$$

Во втором случае в момент включения протока t' урожай для первого составит $(t' - t_1) \cdot P_m$. Из (7) следует, что с увеличением времени культивирования разница в урожае будет уменьшаться. И при $t_f \rightarrow \infty$ урожай будет одинаков для обоих случаев (рис. 2, а).

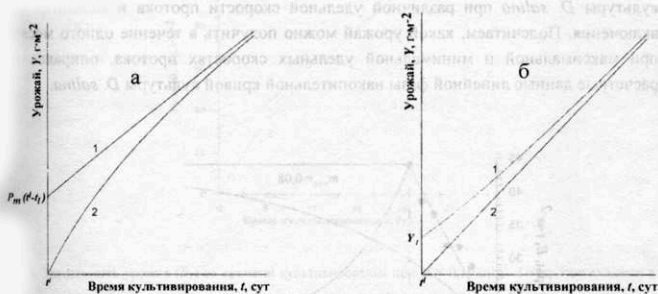


Рис. 2. Сравнительная оценка величины урожая при максимальной (а) и минимальной (б) удельной скорости протока: проток включен в начале (1) и в конце (2) линейного роста. Y_1 – урожай на момент t' .

Аналогичное сравнение можно провести для t_1 и t' при минимальной удельной скорости протока

$$\omega_{\min} = \frac{P_m}{B'}$$

которое также покажет целесообразность включения протока в начале линейного роста (рис. 2, б).

$$Y(t_0 = t_1, \omega = \frac{P_m}{B'}) = (t_f - t_1) \cdot P_m - (B' - B_1) \cdot \left[1 - e^{-\frac{P_m}{B'}(t_f - t_1)} \right]$$

$$Y(t_0 = t', \omega = \frac{P_m}{B'}) = (t_f - t') \cdot P_m \quad (7.2)$$

Если биомассу B , находящуюся в культиваторе на момент времени t , отнести также к урожаю, то, учитывая (5), урожай очевидно, будет равен:

$$Y + B = P_m \cdot (t - t_1) + B_1 \quad (8)$$

Применение модели

На рис. 3 представлена линейная аппроксимация экспериментальных данных линейной фазы накопительной кривой и расчет динамики плотности культуры *D. salina* при различной удельной скорости протока и моментах его включения. Подсчитаем, какой урожай можно получить в течение одного месяца при максимальной и минимальной удельных скоростях протока, опираясь на расчетные данные линейной фазы накопительной кривой культуры *D. salina*.

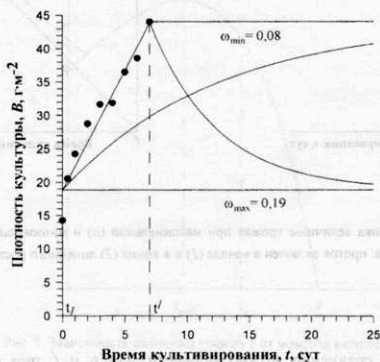


Рис. 3. Динамика плотности культуры (B) *Dunaliella salina* Teod. для максимальной и минимальной удельных скоростей протока, для двух моментов включения протока: в начале и конце линейного роста.

Продуктивность, P_m , $\text{г}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{сут}^{-1}$ – 3,59; плотность культуры в начале линейного роста, B_i , $\text{г}\cdot\text{м}^{-2}$ – 18,85; плотность культуры в конце линейного роста, B_f , $\text{г}\cdot\text{м}^{-2}$ – 44,08; начало линейной фазы роста, t_i , сут – 0; конец линейной фазы роста, t_f , сут – 7; максимальная удельная скорость протока, ω_{\max} , сут^{-1} – 0,19; минимальная удельная скорость протока, ω_{\min} , сут^{-1} – 0,08. Подставим эти данные в выражения (7). При максимальной удельной скорости протока $\omega = 3,59 / 18,85 = 0,19 \text{ сут}^{-1}$ и времени линейного роста $t^l - t_i = 7 - 0$ получим: в первом случае $Y = (30 - 0) \cdot 3,59 = 107,7 \text{ г}\cdot\text{м}^{-2}$, во втором $Y = (30 - 7) \cdot 3,59 + (44,08 - 18,85) \cdot (1 - e^{-0,19 \cdot (30-7)}) = 107,48 \text{ г}\cdot\text{м}^{-2}$. Очевидно, значения величины урожая для обоих случаев близки. Различия будут тем больше, чем меньше время культивирования (рис. 4). Аналогично для минимальной величины $\omega = 3,59 / 44,08 = 0,08 \text{ сут}^{-1}$. При включении протока в момент времени t_i урожай составит $(30-0) \cdot 3,59 = 107,7 \text{ г}\cdot\text{м}^{-2}$, а при включении протока в конце линейного роста – $23 \cdot 3,59 = 82,57 \text{ г}\cdot\text{м}^{-2}$.

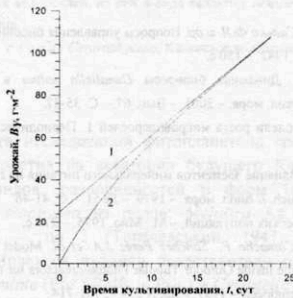


Рис. 4. Зависимость урожая (Y_1) от времени культивирования при $\omega = 0,19 \text{ сут}^{-1}$. 1 – проток включен в момент времени t_i ; 2 – проток включен в момент времени t_f .

Выводы

Величина урожая при неограниченном времени культивирования не зависит от плотности культуры и удельной скорости протока. Разработана простейшая математическая модель, позволяющая прогнозировать величину урожая микроводорослей. Предложенная модель позволила разработать рекомендации для получения максимального урожая *Dunaliella salina* в условиях производства. Для получения максимального урожая при ограниченном времени культивирования необходимо организовать хемостат: 1) с максимальной величиной удельной скорости протока (в рамках линейного роста), 2) с включением протока в начале линейной фазы роста.

R.G. Gevorgiz¹, A.B. Borovkov¹, A.V. Shiryayev²

¹A.O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas,
National Academy of Sciences of Ukraine.

2, Nakhimov Prosp., 99011 Sevastopol, Ukraine

E-mail: spirit2000@ua.fm

²Black Sea Branch of the Moscow State University.

7, Heroev of Sevastopol St., 99011 Sevastopol, Ukraine

OPTIMIZATION MODEL OF MICROALGAE GROWTH MODE IN CHEMOSTAT BY THE EXAMPLE OF *DUNALIELLA SALINA* TEOD.

The mathematical model of microalgae growth in chemostat conditions is developed within the framework of linear growth. It is shown, that at continuous cultivation of microalgae the top yield is achieved at inclusion of a channel right at the beginning of a linear phase of periodic culture, at the maximal size of specific speed of a channel of environment.

К е у в о р д с : *Dunaliella salina*, chemostat, mathematical model, crop.

Белянин В.Н., Тренкеншу Р.П., Сидько Ф.Я. и др. Вопросы управления биосинтезом низших растений. – Новосибирск: Наука, 1982. – 150 с.

Геворгиз Р.Г., Боровков А.Б. Динамика биомассы *Dunaliella salina* в условиях непрерывного культивирования // Экол. моря. – 2005. – Вып. 67. – С. 35-37.

Тренкеншу Р.П. Простейшие модели роста микроводорослей 1. Периодическая культура // Там же. – С. 89-97.

Тренкеншу Р.П., Белянин В.Н. Влияние элементов минерального питания на продуктивность водоросли *Platomonas viridis* Rouch. // Биол. моря. – 1979. – № 51. – С. 41-46.

Уильямсон М. Анализ биологических популяций. – М.: Мир, 1975. – 271 с.

Acién Fernandez F.G., Garcia Camacho F., Sanchez Perez J.A. et al. Model for Light Distribution and Average Solar Irradiance Inside Outdoor Tubular Photobioreactors for the Microalgal Mass Culture // Biotechnol. and Bioengineer. – 1997. – 55, N 5. – P. 701-714.

Borowitzka M.A. Commercial production of microalgae: ponds, tanks, tubes and fermenters // J. Biotechnol. – 1999. – 70. – P. 313-321.

Enes I., Saraiva P. Optimization of operating strategies in β -carotene microalgae bioreactors // Computers Chem. Engng. – 1996. – 20. – P. 509-514.

Garcia-Gonzalez M., Moreno J., Canavate J.P. et al. Conditions for open-air outdoor culture of *Dunaliella salina* in southern Spain // J. Appl. Phycol. – 2003. – 15. – P. 177-184.

Ogbonna J.C., Tanaka H. Light requirement and photosynthetic cell cultivation — Development of processes for efficient light utilization in photobioreactors // Ibid. – 2000. – 12. – P. 207-218.

Zilberman D., Caswell M. Algalculture. – Department of Agricultural and Resource Economics, University of California at Berkeley, 2000. – 100 p.

Получена 03.05.06

Подписал в печать А.И. Божков