

ОРИГИНАЛЬНАЯ СТАТЬЯ

УДК 631.117

DOI: 10.26897/2687-1149-2021-5-31-35

ПРИМЕНЕНИЕ МИКРОВОДОРОСЛИ *CHLORELLA VULGARIS* НА ЖИВОТНОВОДЧЕСКОМ КОМПЛЕКСЕ*КОЖЕВНИКОВ ЮРИЙ АЛЕКСАНДРОВИЧ*, канд. техн. наук, зав. лаб.*МАМЕДОВА РОЗА АНВЯРОВНА*, канд. техн. наук, старший научный сотрудникfemaks@bk.ru; <http://orcid.org/0000-0001-9145-4478>

Федеральный научный агроинженерный центр ВИМ; 109428, Российская Федерация, г. Москва, 1-й Институтский проезд, д. 5

Аннотация. Промышленное производство фитомассы микроводорослей энергетического назначения на отходах сельхозпроизводства позволяет решать не только проблемы внутреннего энергообеспечения хозяйств, но и экологические проблемы в аграрном секторе. Схема замкнутого цикла энергообеспечения комплекса КРС позволяет получить горячую воду, кормовые добавки к рациону КРС, биогумус, моторное биотопливо и углекислый газ, который целесообразно использовать в процессе культивирования микроводорослей. Приведено исследование экспериментального процесса культивирования микроводорослей в фотобиореакторе в целях изучения влияния технологических условий на продуктивность микроводоросли и получения исходных данных для разработки замкнутых циклов использования энергетического потенциала альгамассы в теплоэлектрообеспечении различных производств, в том числе сельхозпредприятий (животноводческие комплексы, птицефермы и т.д.). Эксперименты проводились на фотобиореакторе для культивирования микроводорослей с интеллектуальной системой управления. Разрабатываемый фотобиореактор отличается от известных пульсационным гидродинамическим режимом подачи питательного раствора, что обеспечивает повышение продуктивности культивирования микроводоросли до 15%. Экспериментальное моделирование условий культивирования микроводоросли *Chlorella vulgaris* на комбинированном питании (среда Тамийя + навозный субстрат) показало заметное увеличение продуктивности культуры при добавлении в состав питательной среды экстракта навоза КРС в количестве от 30 до 60% (об.), что может быть использовано при разработке замкнутых циклов теплоэлектрообеспечения ферм КРС на основе биотоплива третьего поколения, получаемого из фитомассы микроводорослей.

Ключевые слова: фотобиореактор, биотопливо, процесс культивирования, фитомасса микроводорослей, замкнутый цикл, энергообеспечение, навоз КРС.

Формат цитирования: Кожевников Ю.А., Мамедова Р.А. Применение микроводоросли *Chlorella vulgaris* на животноводческом комплексе // Агроинженерия. 2021. № 5(105). С. 31-35. <https://doi.org/10.26897/2687-1149-2021-5-31-35>.

© Кожевников Ю.А., Мамедова Р.А., 2021



ORIGINAL PAPER

APPLICATION OF MICROALGAE *CHLORELLA VULGARIS* BY LIVESTOCK BREEDING ENTERPRISES*YURIY A. KOZHEVNIKOV*, PhD (Eng), Laboratory Head*ROZA A. MAMEDOVA* ✉, PhD (Eng), Senior Research Associatefemaks@bk.ru ✉; <http://orcid.org/0000-0001-9145-4478>Federal Scientific Agroengineering Center VIM; 5, 1st Institutskiy Proezd Str., Moscow, 109428, Russian Federation

Abstract. Industrial production of microalgae phytomass from agricultural waste for energy production purposes can solve the internal energy supply and environmental issues in the farm sector. The closed-cycle energy supply scheme is used in the livestock breeding facility to get hot water, feed additives to the cattle diet, biohumus, motor biofuels, and carbon dioxide, which is advisable to use in microalgae cultivation. The article presents a study of the experimental process of microalgae cultivation in a photobioreactor. The study goal was to determine the influence of technological conditions on the productivity of microalgae and obtain initial data for the development of closed cycles of using the energy potential of algamass in the heat and power supply of farm enterprises (e.g. dairy and poultry farms etc.). The authors carried out experiments using a photobioreactor for microalgae cultivation with an intelligent control system. The developed photobioreactor differs from the conventional variants by the pulsating hydrodynamic mode of feeding the nutrient solution. This modification increases the productivity of microalgae cultivation by up to 15%. The cultivation conditions of *Chlorella vulgaris* microalgae on combined nutrition showed a noticeable increase in crop productivity when adding cattle manure extract in the amount of 30 to 60% (vol.) to the nutrient medium. This factor can be used to design closed cycles of thermal and electrical supply of cattle farms based on third-generation biofuels obtained from microalgae phytomass.

воды на 100 г навоза. Обработку в ванне производили в течение 10-25 мин до получения гомогенной взвеси. После этого взвесь пропускали через фильтр. Полученную таким образом среду «МО» хранили в холоде. Перед использованием требуемое количество среды доводили до температуры 18...25°C.

Все эксперименты по культивированию микроводоросли проводили в фотобиореакторе объемом 15,4 л в квазинепрерывном режиме при одной и той же средней скорости потока культуральной среды – 0,4 л/ч.

Скорость подачи углекислого газа составляла 0,2 г/мин (0,1 л/мин в пересчете на нормальное давление).

Микроводоросли выращивали на питательных минеральной и минерально-органических питательных средах при разных соотношениях субстратов двух описанных выше составов.

Проведены эксперименты по культивированию микроводоросли на питательной среде «М» без добавления питательной среды «МО», а также на их смеси в объемном соотношении, соответственно: 4:1, 3:1, 2:1, 1:1 и 1:2. Начальная концентрация инокулята во всех экспериментах составляла 0,45 г/л.

Плотность суспензии в абсолютно сухой массе $\rho_{АСМ}$ на выходе из биореактора определяли фотометрическим методом по оптической плотности на длине волны 0,75 мкм. Объемную плотность суспензии определяли эмпирическим путем, используя линейную аппроксимацию зависимости оптической плотности⁴ [5]:

$$\rho_{АСМ} = (D_{750} + 0,08) / 1,42.$$

В качестве объекта культивирования была выбрана зеленая водоросль *Chlorella vulgaris*, которая в рамках настоящей работы рассматривается как наиболее приемлемый вид фитопланктона для промышленного производства фитомассы энергетического применения по двухстадийной технологии.

Существенным преимуществом *Chlorella vulgaris* является высокая конкурентоспособность по отношению к патогенной микрофлоре (сине-зеленые) и высокая продуктивность, что связано с широкой распространенностью в природных водоемах средней полосы РФ и высокой приспособляемостью к типичным для этой климатической зоны биосистемам. Хлорелла относится к наиболее изученным видам фитопланктона и часто используется в качестве модельного объекта при изучении особенностей роста и размножения микроорганизмов [6].

Навоз КРС содержит органические и минеральные компоненты [7]:

- вода 74,0%;
- органические вещества 23,0%;
- азот общий 0,50%;
- азот аммиачный 0,15%;
- фосфор (P_2O_5) 0,20%;
- калий (K_2O) 0,60%.

Навоз может быть источником биогенных компонентов при культивировании микроводорослей. Поскольку речь идет о производстве фитомассы биотопливного назначения, высокие требования к стерильности производства не предъявляются.

Экспериментальное моделирование процесса культивирования микроводорослей производилось в непрерывном

режиме на экспериментальной установке, включающей в себя цилиндрический фотобиореактор проточного типа, систему рециркуляции культуральной жидкости, систему терморегулирования, систему освещения, систему насыщения углекислым газом и систему вентиляции. Работа всех систем осуществлялась в автоматическом режиме и регулировалась с применением автоматической системы управления.

Схема фотобиореактора для культивирования микроводорослей представлена на рисунке 2.

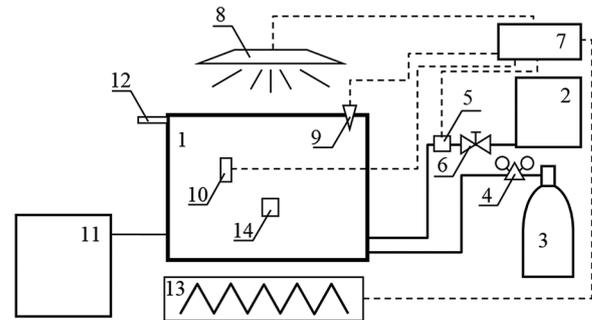


Рис. 2. Схема фотобиореактора с интеллектуализированной системой управления процесса культивирования микроводорослей:

- 1 – фотобиореактор; 2 – сырьевая емкость;
- 3 – баллон с CO_2 ; 4 – газовый редуктор;
- 5 – датчик потока; 6 – клапан тонкой регулировки;
- 7 – система контроля параметров культивации;
- 8 – система освещения; 9 – датчик температуры;
- 10 – датчик концентрации микроводорослей;
- 11 – приемная ёмкость; 12 – патрубок выхода избыточных газов (вентиляция фотобиореактора);
- 13 – система термостатирования;
- 14 – датчик растворенного CO_2

Fig. 2. Diagram of a photobioreactor with an intelligent control system for the cultivation of microalgae:

- 1 – photobioreactor; 2 – raw material container;
- 3 – CO_2 cylinder; 4 – gas reducer; 5 – flow sensor;
- 6 – fine adjustment valve; 7 – cultivation parameter control system;
- 8 – lighting system; 9 – temperature sensor;
- 10 – microalgae concentration sensor; 11 – receiving tank;
- 12 – excess gas outlet pipe (photobioreactor ventilation);
- 13 – temperature control system; 14 – dissolved CO_2 sensor

Фотобиореактор для культивирования микроводорослей снабжен подсистемами освещения, подачи питающего сырья, термостатирования и контроля параметров культивации.

Подсистема освещения представляет собой светодиодные элементы, направленные на трубки фотобиореактора так, чтобы обеспечивать максимальное попадание света на находящуюся в трубках культивационную среду. Светодиодная подсветка, используемая в данной работе, собрана на светодиодных элементах двух цветов, находящихся в областях спектра, необходимых для культивации растений (красный и синий) [6].

Подсистема подачи питающего сырья включает в себя сырьевую ёмкость, из которой через кран тонкой регулировки анаэробно обработанные органические отходы в заданном количестве попадают в фотобиореактор, а также газовую линию, по которой через газовый редуктор из баллона подается углекислый газ в фотобиореактор.

⁴ Смирнова П.М., Муравина Э.А. Агрохимия. 2-е изд. М.: Колос, 1984. С. 304.

Подсистема термостатирования имеет собственный теплоноситель и работает следующим образом. Внутри некоторых прозрачных трубок фотобиореактора, в которых происходит культивация микроводорослей, коаксиально расположены трубки из нержавеющей стали, проходящие фотобиореактор насквозь. Через эти нержавеющие трубки происходит циркуляция термостатируемого теплоносителя.

Система контроля параметров культивации предназначена для контроля и корректировки параметров культивирования. Ядром системы служит встраиваемая система на основе микроконтроллера Atmega328. Система снабжена следующим набором датчиков:

- 4 датчика температуры, расположенные равномерно по ходу движения культивируемой жидкости. В случае отклонения температуры от заданной происходит корректировка температуры теплоносителя системы термостатирования (или увеличение скорости циркуляции теплоносителя);
- датчик потока, который измеряет поток анаэробно обработанных органических отходов из сырьевой емкости. В случае отклонения скорости от заданной происходит сигнализация;
- датчик концентрации микроводорослей, служащий для оценки процесса роста микроводорослей;
- датчик растворенного CO₂.

Подсистема контроля параметров культивации также снабжена bluetooth модулем для связи с ПК. Для визуализации и записи параметров процесса культивации в среде National Instruments LabView была разработана программа для ПК. Разработанная программа позволяет наблюдать и записывать в реальном времени показания датчиков. Также возможно изменение установки температуры теплоносителя.

Фотобиореактор отличается пульсационным гидродинамическим режимом подачи питательного раствора, что обеспечивает следующие показатели:

- повышение продуктивности культивирования микроводорослей до 15%;
- температуру процесса культивирования – 24°C;
- концентрацию CO₂ в суспензии микроводорослей в воде – 400 мг/л;
- достаточную освещенность суспензии микроводорослей в воде светом, длинами волн переменной освещенности красного (660 нм)-синего (445 нм) спектров.

При проведении экспериментальной работы по культивированию микроводорослей *Chlorella vulgaris* в проточном фотобиореакторе за основу экспериментов принимался жизненный цикл, состоящий из четырех основных фаз развития: рост, созревание, дозревание и деление; фаза обнуления, при которой процесс повторяется заново. Экспериментальные данные опытов по скорости роста микроводорослей *Chlorella vulgaris* определялись с интервалом 6, 24, 30 часов.

Результаты и обсуждение. Проведены эксперименты по моделированию процесса культивирования фитомассы микроводорослей, в которых проверялась работоспособность всех систем фотобиореактора в типовых условиях выращивания *Ch. Vulgaris*, а также изучалась зависимость продуктивности микроводоросли от энергетических и субстратных факторов. В частности, исследовалось влияние присутствия в культуральной среде минеральных и органических веществ в виде экстрактов из отходов крупного рогатого скота.

Условия культивирования приведены в таблице.

Таблица

Условия проведения экспериментов

Table

Experimental conditions

Состав питательной среды, об. ед. <i>Composition of the nutrient medium, vol. units</i>		Температура культуральной среды, T _{ср} , °C <i>Culture medium temperature, °C</i>	Оптическая плотность, D ₇₅₀ <i>Optical density, D750</i>	Плотность суспензии в абсолютно сухой массе, ρ _{АСМ} , г/л <i>Suspension density in absolutely dry mass, ρ_{АСМ}, g/l</i>
«М»	«МО»			
1	0	26,2	1,90	2,62
4	1	26,0	1,87	2,57
3	1	26,1	1,89	2,60
2	1	26,2	2,18	3,02
1	1	26,0	2,56	3,56
1	2	26,4	1,75	2,41

Средняя температура культуральной среды T_{ср} колебалась в серии в пределах нескольких десятых градуса (табл.). Это объясняется тем, что ввиду изменения воздушных потоков внутри помещения не удавалось более точно термостатировать фотобиореактор. Тем не менее эти колебания малы и не влияют на достоверность качественной оценки результатов моделирования.

Результаты экспериментов показаны на рисунке 3.

Зависимость продуктивности микроводоросли от объемной доли навозного экстракта в питательной среде показывает, что введение экстракта в культуральную среду

в количестве вплоть до 25% не приводит к заметным изменениям продуктивности культуры (рис. 3). При концентрации 30% наблюдается значительный рост ее продуктивности, а при увеличении доли навозного экстракта до 65% происходит снижение продуктивности до уровня ниже значения при культивировании на полностью минеральной питательной среде.

Известно, что одноклеточные микроорганизмы способны не синтезировать биомассу в миксотрофном цикле при питании органическими веществами [10]. Изучение физико-биологических механизмов миксотрофизма

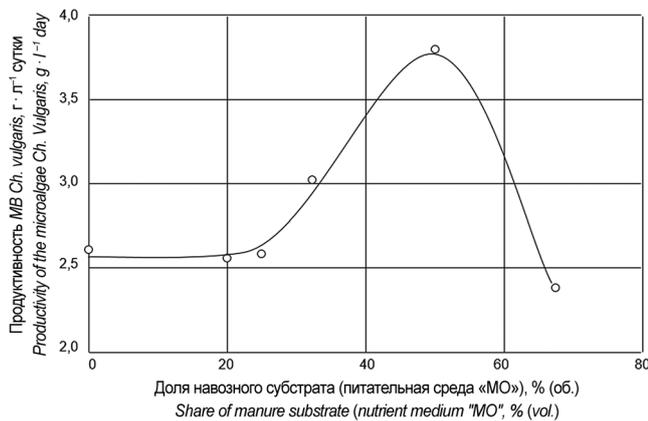


Рис. 3. Зависимость продуктивности микроводоросли от доли навозного субстрата в питательной среде

Fig. 3. Relationship between the productivity of microalgae and the share of manure substrate in the nutrient medium

Библиографический список

- Hena S., Fatimah S., Tabassum S. Cultivation of algae consortium in a dairy farm wastewater for biodiesel production. *Water Resources and Industry*. 2015; 10: 1-14. <https://doi.org/10.1016/j.wri.2015.02.002>
- Sheehan J., Dunahay T., Benemann J. et al. A look back at the U.S. Department of Energy's aquatic species program: Biodiesel from algae. 1998: 325. <https://doi.org/10.2172/15003040>
- Karimi Z., Laughinghouse H., Davis V.A. et al. Substrate properties as controlling parameters in attached algal cultivation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2021; 105: 1823-1835. <https://doi.org/10.1007/s00253-021-11127-y>
- Canton M.C., Holguin F.O., Gard C.C. et al. Allelochemical effect of gramine under temperature stress and impact on fat transesterification. *Chemistry and Ecology*, 2021; 37 (5): 481-492. <https://doi.org/10.1080/02757540.2021.1888934>
- Минюк Г.С., Тренкеншу Р.П., Алисиевич А.В. и др. Влияние селена на рост микроводоросли *Spirulina platensis* (Nords.) в накопительной и квазинепрерывной культурах // Экология моря. 2000. № 54. С. 42-49.
- Taylor D.J., Green N.P.O., Stout W. et al. *Biological science*. Vol. 1; ed. R. Soper Cambridge: Cambridge University Press, 1998.
- Kebede-Westhead E., Pizarro C., Mulbry W. Treatment of dairy manure effluent using freshwater algae: elemental composition of algal biomass at different manure loading rates. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2004; 52 (24): 7293-7296. <https://doi.org/10.1021/jf0491759>

Критерии авторства

Кожевников Ю.А., Мамедова Р.А. выполнили теоретические исследования, на основании полученных результатов провели эксперимент и подготовили рукопись. Кожевников Ю.А., Мамедова Р.А. имеют на статью авторские права и несут ответственность за плагиат.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Статья поступила в редакцию 20.04.2021

Одобрена после рецензирования 16.07.2021

Принята к публикации 16.07.2021

микроводорослей может стать основой для создания методов целенаправленной коррекции химического состава фитомассы микроводорослей биотопливного назначения и снижения энергоёмкости технологического цикла культивирования.

Выводы

Экспериментальное моделирование условий культивирования микроводоросли *Ch. vulgaris* на комбинированном питании (среда Тамия + навозный субстрат) выявило заметное увеличение продуктивности культуры при добавлении в состав питательной среды экстракта навоза КРС в количестве от 30 до 60% (об.), что, возможно, обусловлено миксотрофными свойствами исследуемого микробиологического объекта и может быть использовано при разработке замкнутых циклов теплоэлектрообеспечения ферм КРС на основе биотоплива третьего поколения, получаемого из фитомассы микроводорослей.

References

- Hena S., Fatimah S., Tabassum S. Cultivation of algae consortium in a dairy farm wastewater for biodiesel production. *Water Resources and Industry*. 2015; 10: 1-14. <https://doi.org/10.1016/j.wri.2015.02.002>
- Sheehan J., Dunahay T., Benemann J. et al. A look back at the U.S. Department of Energy's aquatic species program: Biodiesel from algae. 1998: 325. <https://doi.org/10.2172/15003040>
- Karimi Z., Laughinghouse H., Davis V.A. et al. Substrate properties as controlling parameters in attached algal cultivation. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 2021; 105: 1823-1835. <https://doi.org/10.1007/s00253-021-11127-y>
- Canton M.C., Holguin F.O., Gard C.C. et al. Allelochemical effect of gramine under temperature stress and impact on fat transesterification. *Chemistry and Ecology*, 2021; 37(5): 481-492. <https://doi.org/10.1080/02757540.2021.1888934>
- Minyuk G.S., Trenkenshu R.P., Alisieyevich A.V., etc. Vliyaniye selena na rost mikrovodorosli *Spirulina platensis* (Nords.) v nakopitel'noy i kvazinepreryvnoy kul'turakh [Effect of selenium on the growth of the *Spirulina platensis* (Nords.) microalgae in accumulative and quasi-continuous cultures]. *Ekologiya morya*. 2000; 54: 42-49. (In Rus.)
- Taylor D.J., Green N.P.O., Stout W. et al. *Biological science*. Vol. 1; ed. R. Soper Cambridge: Cambridge University Press, 1998.
- Kebede-Westhead E., Pizarro C., Mulbry W. Treatment of dairy manure effluent using freshwater algae: elemental composition of algal biomass at different manure loading rates. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2004; 52(24): 7293-7296. <https://doi.org/10.1021/jf0491759>

Contribution

Yu.A. Kozhevnikov, R.A. Mamedova carried out theoretical studies and conducted the experiment based on the obtained theoretical results. Yu.A. Kozhevnikov, R.A. Mamedova have equal author's rights and bear equal responsibility for plagiarism.

Conflict of interests

The authors declare no conflict of interests regarding the publication of this paper.

The paper was received 20.04.2021

Approved after reviewing 16.07.2021

Accepted for publication 16.07.2021