

**Водные биоресурсы и среда обитания**  
 2022, том 5, номер 4, с. 83–91  
<http://journal.azniirkh.ru>, [www.azniirkh.ru](http://www.azniirkh.ru)  
 doi: 10.47921/2619-1024\_2022\_5\_4\_83  
 ISSN 2618-8147 print, ISSN 2619-1024 online



**Aquatic Bioresources & Environment**  
 2022, vol. 5, no. 4, pp. 83–91  
<http://journal.azniirkh.ru>, [www.azniirkh.ru](http://www.azniirkh.ru)  
 doi: 10.47921/2619-1024\_2022\_5\_4\_83  
 ISSN 2618-8147 print, ISSN 2619-1024 online

УДК 581.1:57.032:57.033

## РАСЧЕТ ОПТИМАЛЬНЫХ ГРАНИЦ ПЛОТНОСТИ ПОЛУНЕПРЕРЫВНОЙ КУЛЬТУРЫ МИКРОВОДОРОСЛИ *TETRASELMIS VIRIDIS* ROUCH. ДЛЯ ПОДДЕРЖАНИЯ МАКСИМАЛЬНОЙ СКОРОСТИ ЕЕ РОСТА

© 2022 Р. П. Тренкеншу, Я. Д. Жондарева, Т. М. Новикова

ФГБУН Федеральный исследовательский центр «Институт биологии южных морей  
 имени А.О. Ковалевского РАН», Севастополь 335011, Россия  
 E-mail: nowtanj@yandex.ru

**Аннотация.** На примере лабораторной культуры *Tetraselmis viridis* (Rouchijajnen) показан способ реализации максимальной продуктивности в квазиплотностатном процессе выращивания микроводорослей. Экспериментальной основой для расчета оптимальных условий служит накопительная кривая при конкретных условиях выращивания. Анализ кривой позволил выделить участок линейного роста с 4-х по 6-е сутки выращивания, определить максимальную продуктивность (0,42 г/л·сут.) и найти границы плотностей (1,32–2,37 г/л), внутри которых микроводоросли растут с максимальной скоростью. При переходе в квазиплотностатный режим культивирования оптимальный диапазон сужается сверху на величину прироста за время между разведениями культуры. Для *T. viridis* время роста внутри оптимального диапазона плотностей превышает сутки, что позволяет контролировать плотность и осуществлять отбор только один раз в сутки, поддерживая продуктивность на максимальном уровне. При ежесуточном отборе и разбавлении культуры оптимальный диапазон плотностей составляет 1,32–1,95 г/л. Переход в квазиплотностатный режим выращивания *T. viridis* при ежесуточном разбавлении плотности до 1,4 г/л экспериментально подтвердил расчетные данные. На накопительной кривой роста точка окончания фазы максимальной продуктивности характеризуется резким снижением скорости роста, что указывает на смену фактора, лимитирующего рост при плотности культуры выше 2,37 г/л. При этом дальнейший линейный рост указывает на то, что таким фактором является недостаток потока углерода на клетку. Экспериментальная проверка подтвердила это предположение. В дополнительном опыте поток углерода с воздухом был снижен за счет отключения распылителя. Это привело к снижению диапазона оптимальных плотностей с 0,95 до 0,69 г/л при максимальной продуктивности 0,26 г/л·сут. Переход в квазиплотностатный режим выращивания при ежесуточном разбавлении плотности до 0,8 г/л экспериментально подтвердил расчетные данные.

**Ключевые слова:** микроводоросли, *Tetraselmis viridis*, полунепрерывное культивирование, максимальная продуктивность, оптимальный диапазон плотностей

**CALCULATION OF OPTIMAL DENSITY LIMITS FOR A  
SEMI-CONTINUOUS CULTURE OF MICROALGAE *TETRASELMIS  
VIRIDIS* ROUCH. TO MAINTAIN ITS MAXIMUM GROWTH RATE**

**R. P. Trenkenshu, Ya. D. Zhondareva, T. M. Novikova**

*FSBIS Federal Research Center "A.O. Kovalevsky Institute of Biology  
of the Southern Seas of RAS", Sevastopol 335011, Russia  
E-mail: nowtanj@yandex.ru*

**Abstract.** On the example of the laboratory culture *Tetraselmis viridis* (Rouchijajnen), a method for achieving the maximum productivity in a process of growing microalgae based on a regular dilution of the culture down to a specific density ("quasi-densitostat") is shown. The experimental basis for calculating optimal conditions is a cumulative curve under specific growing conditions. Analysis of this curve made it possible to identify a linear growth section from the 4<sup>th</sup> to the 6<sup>th</sup> cultivation day, as well as to establish the maximum productivity (0.42 g/L·day) and find the range of densities (1.32–2.37 g/L), within which microalgae grow at maximum speed. After switching to a quasi-densitostat cultivation regime, the optimal range is narrowed from the top down by the amount of growth gain for the time between culture dilutions. For *T. viridis*, growth time within the optimal density range exceeds a day, which allows to keep control over the density and do the extraction only once a day, maintaining its productivity at the maximum level. With daily extraction and dilution of the culture, the optimal density range is 1.32–1.95 g/L. Transition to a quasi-densitostat mode of *T. viridis* cultivation with daily dilution down to 1.4 g/L experimentally confirmed the calculated data. On the cumulative growth curve, the end point of the maximum productivity phase is characterized by a sharp decrease in the growth rate, which indicates a change in the factor limiting growth at a culture density above 2.37 g/L. Further linear growth indicates that this factor is the insufficient carbon supply to the cell. Experimental verification confirmed this assumption. In the additional experiment, the flow of carbon with the air was reduced by turning off the air sprayer. It resulted in a decrease in the range of optimal densities from 0.95 to 0.69 g/L, with the maximum productivity of 0.26 g/L·day. Transition to a quasi-densitostat mode of cultivation with daily dilution to the density of 0.8 g/L experimentally confirmed the calculated data.

**Keywords:** microalgae, *Tetraselmis viridis*, semi-continuous cultivation, maximum productivity, optimal density range

## ВВЕДЕНИЕ

Современное развитие массового производства микроводорослей как источника корма в аквакультуре и сырья для получения полезных биотехнологических продуктов требует разработки эффективных и относительно простых методов культивирования. К настоящему времени наибольшее распространение получил полупрерывный (квазинепрерывный) способ выращивания микроводорослей. Суть метода состоит в том, что, в отличие от накопительного способа, при котором культура проходит все фазы развития, на определенном этапе роста производится отбор части культуры с соответствующей добавкой питательных веществ [1].

Такой режим управления ростом культуры может осуществляться различными способами: либо непрерывной подачей свежей питательной среды с соответствующей скоростью отбора куль-

туры (хемотрат), либо периодическим отбором заданного объема культуры с доливом такого же объема среды (квазихемотрат), либо непрерывным доливом свежей питательной среды с соответствующим разведением культуры (плотностат), либо периодическим разведением культуры до заданной плотности (квазиплотностат) [2, 3].

Выбор способа управления культивированием микроводорослей зависит от условий, при которых реализуются максимальные ростовые характеристики. Эти условия связаны со световым и минеральным питанием, а также с поддержанием других физико-химических факторов среды на определенном уровне, обеспечивающем интенсивный рост культуры. Кроме того, важным параметром управления являются биохимические характеристики получаемого продукта.

С практической точки зрения наиболее приемлемым можно считать вариант управления с еже-

суточным отбором культуры. Это касается и лабораторных опытов, и массового выращивания, так как такое управление значительно упрощает и упорядочивает рабочее время обслуживания системы культивирования. Поддержание плотности культуры в определенных границах за счет ежесуточного отбора части культуры с соответствующим доливом такого же объема свежей питательной среды позволяет не только стабилизировать культуру на заданной фазе роста, но и поддерживать общий объем системы культивирования на постоянном уровне. При этом можно поддерживать постоянным размерный состав популяции клеток и химический состав биомассы.

Одним из объектов, перспективных для промышленного производства и практического использования, можно рассматривать морские одноклеточные водоросли рода *Tetraselmis* = *Platymonas* [4]. С развитием аквакультуры ценных пород рыб появилась потребность в пигментах и полиненасыщенных жирных кислотах, которые не только стимулируют рост и выживаемость личинок рыб, но и повышают качество конечной продукции [4, 5]. В этом отношении морские виды микроводорослей являются наиболее перспективным источником биологически ценных продуктов.

Первые опыты с относительно крупными объемами микроводоросли *Tetraselmis suecica* показали возможность выращивания этой микроводоросли в закрытых емкостях объемом 330 л с погружными источниками света [6]. Плотность культуры достигала 0,5 млн кл./мл, но устойчивого непрерывного роста авторам достичь не удалось.

В опытах с галотолерантным штаммом водоросли *Tetraselmis* sp., MUR-233 устойчивый рост наблюдался в течение 5 месяцев в пилотных открытых бассейнах (raceway) при увеличении солености среды. Максимальная продуктивность была достигнута при миксотрофном питании (с дополнительной подпиткой органическим углеродом) и составила 37,5 г/м<sup>2</sup>·сут. [7]. Аналогичные результаты были получены с культурой *Tetraselmis* sp. MBEyh04Gc (KCTC 12432BP), выращиваемой в тепличных бассейнах объемом 40000 л с подачей через распылители 5%-ной смеси CO<sub>2</sub> с воздухом [8].

В предлагаемой работе на примере черноморской флагелляты *Tetraselmis viridis* (Rouchijajnen) показан способ реализации максимальной про-

дуктивности в квазиплотностатном режиме культивирования микроводорослей с максимальной скоростью роста.

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объект. В опытах использовали альгологически чистую культуру *Tetraselmis (Platymonas) viridis* (Rouchijajnen) R.E. Norris, Hori & Chihara, 1980 — штамм IBSS-25 из ЦКП «Коллекция гидробионтов Мирового океана» ФИЦ «Институт биологии южных морей имени А.О. Ковалевского РАН». Черноморская флагеллята *Tetraselmis viridis* Rouch. впервые описана [9] и выделена в культуру из Черного моря [10]. Устойчивый непрерывный рост *T. viridis* был получен в хемостате на тихоокеанской воде, что позволило авторам изучить ростовые характеристики вида [8]. На основе экспериментов с элементами минерального питания клеток была разработана питательная среда для *T. viridis*, позволяющая получать устойчивый непрерывный рост микроводоросли в плотной культуре [11]. Данная питательная среда рассчитана на достижение плотности культуры до 4–6 г (абсолютно сухого вещества, АСВ)/л; при работе с пониженными или повышенными плотностями концентрации всех элементов следует пропорционально изменить.

*T. viridis* выращивали накопительным и квазиплотностатным методом в двух стеклянных культиваторах плоскопараллельного (слой 2 см) типа [4] с рабочим объемом 1 л при боковом поверхностном освещении 10 кЛк. Освещенность поверхности фотобиореакторов определяли люксметром Ю-116. С целью компенсации испарения воды, на протяжении всего эксперимента поддерживали этот объем, доливая перед измерениями дистиллированную воду до отметки 1 л. Скорость продувки воздухом через трубку или распылители в культуре составляла 1 л/мин. Температура среды автоматически поддерживалась в диапазоне 27–28 °С [4]; ее контролировали ртутным термометром непосредственно в культиваторе. Для засева экспериментальных культиваторов использовали активно делящуюся культуру; начальная плотность составляла 0,23 г/л абсолютно сухого вещества.

Оптическую плотность рассчитывали по формуле  $D = -\lg(T)$ , где  $T$  — величина пропускания, определяемая на Unico 2100 (United Products & Instruments, USA) при толщине кюветы 5 мм и длине волны 750 нм; абсолютная погрешность

при измерении величины пропускания не превышала 1,0 %. При пересчете единиц оптической плотности на сухой вес микроводорослей (АСВ) использовали эмпирически определенный коэффициент, равный 0,8 г/л·ед. опт. пл. Определение плотности по сухому весу и подсчет концентрации клеток в камере Горяева производили в пятикратной повторности по методикам, описанным в работе [12]. Микроскопический контроль культуры производили с помощью светового микроскопа Carl Zeiss AxioStar Plus (Carl Zeiss, Германия). Математическую обработку и моделирование экспериментальных данных осуществляли с помощью компьютерных программ Libre Office и Scidavis для уровня значимости  $\alpha=0,05$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Для предварительной оценки ростовых характеристик *Tetraselmis viridis* был проведен первый этап исследований, в котором изучалось влияние способа углеродного обеспечения клеток за счет барботирования накопительной культуры атмосферным воздухом. Поддержание прочих физико-химических условий на постоянном уровне и используемая питательная среда гарантировали отсутствие лимитирующих факторов, кроме изучаемых, в относительно широком диапазоне. Выбор атмосферного источника углекислого газа в качестве лимитирующего фактора обусловлен тем, что углерод представляет собой наибольший компонент минерального состава биомассы микроводорослей (50 % от абсолютно сухой массы, АСВ), а его минеральные источники в виде углекислого газа или бикарбонатов являются наиболее затратными при фотоавтотрофном выращивании культуры.

Кривая роста плотности культуры и концентрации клеток при подаче в культиватор атмосферного воздуха через распылитель показана на рис. 1. Накопительный рост наблюдался в течение первых 13 суток, что позволяет выделить и количественно описать три основные фазы роста культуры в виде математических моделей, а также оценить точки смены факторов, лимитирующих рост при изменении плотности.

Экспоненциальная фаза. Характеризуется максимальной удельной скоростью роста, которая определяется только внешним освещением, т. к. плотность культуры невысокая и концентрация элементов минерального питания изменяется

незначительно, а клетки не затеняют друг друга. Такой рост плотности ( $B$ ) наблюдается в течение первых четырех суток ( $t$ ) и приближенно описывается уравнением, показанным на рис. 1.

$$B = B_0 e^{\mu t}; (0 \leq t \leq 4);$$

$$B \langle z / l \rangle = 0,2 \langle z / l \rangle \cdot e^{0,48 \langle 1 / \text{сут.} \rangle t \langle \text{сут.} \rangle}.$$

Для поддержания максимальной удельной скорости роста (0,48 1/сут.) необходимо, чтобы плотность культуры не превышала верхнюю границу плотности, которая при данной внешней освещенности составляет около 1,3 г/л или 1,2 млн кл./мл. Это требует частого или непрерывного контроля плотности.

Следующей фазой роста является линейная фаза, которая характеризуется максимальной продуктивностью культуры ( $P_{m1}$ ). Этот участок роста лимитирован световыми условиями, складывающимися в культуре, за счет повышения плотности при неизменной внешней интенсивности света [13]. Динамика плотности на этой фазе роста описывается уравнением прямой, а сама фаза длится немногим более трех суток:

$$4 \leq t_1 \leq 6,5;$$

$${}^1 B \langle z / l \rangle = P_{m1} t_1 + b_1 = 0,42 \langle z / (l \cdot \text{сут.}) \rangle \times \\ \times t_1 \langle \text{сут.} \rangle - 0,36 \langle z / l \rangle.$$

Плотность культуры на границах этого участка:

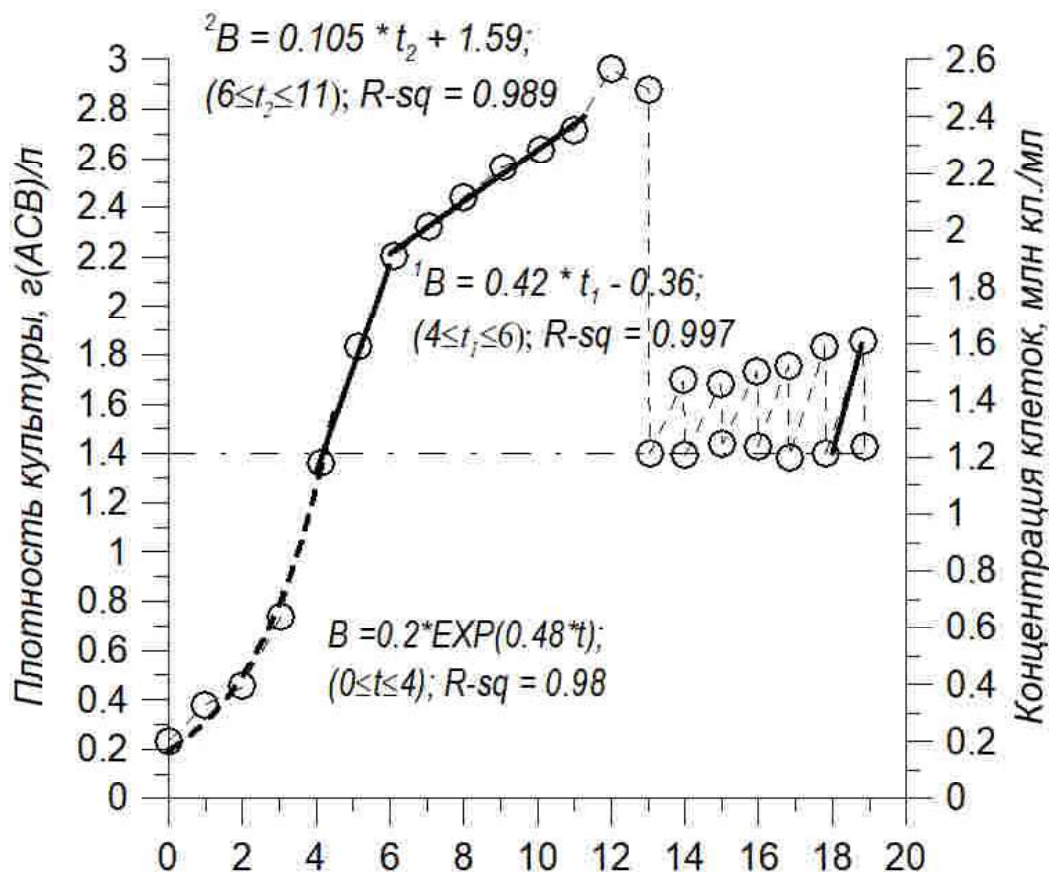
$$t_1 = 4 \langle \text{сут.} \rangle;$$

$${}^1 B = 0,42 \langle z / (l \cdot \text{сут.}) \rangle 4 \langle \text{сут.} \rangle - 0,36 \langle z / l \rangle = \\ = 1,32 \langle z / l \rangle;$$

$$t_1 = 6,5 \langle \text{сут.} \rangle;$$

$${}^1 B = 0,42 \langle z / (l \cdot \text{сут.}) \rangle 6,5 \langle \text{сут.} \rangle - 0,36 \langle z / l \rangle = \\ = 2,37 \langle z / l \rangle.$$

Практически это означает, что для постоянного получения максимальной продуктивности культуры необходимо, чтобы плотность культуры до и после разведения не выходила за пределы найденных границ. Реализация этого условия возможна при ежесуточном отборе такого объема культуры (с соответствующим объемом добавляемой свежей среды), чтобы плотность после разведения не опускалась ниже 1,32 г/л (1,14 млн кл./мл). В то же время максимальную продуктивность можно реализовать только в случае, если плотность не превысит верхний предел плотности 2,37 г/л (2,05 млн кл./мл), т. к. продуктивность



**Рис. 1.** Динамика роста *Tetraselmis viridis* — накопительного (в первые 13 суток) и после перехода в квазиплотностатный режим с ежесуточным разбавлением культуры до плотности 1,4 г(АСВ)/л. Сплошными линиями выделены линейные участки роста. Подача в культуру воздуха с помощью распылителя

**Fig. 1.** Dynamics of *Tetraselmis viridis* growth: cumulative growth (during the first 13 days) and the growth after switching to a quasi-densitostat mode with daily dilution of the culture to the density of 1.4 g(ADW)/L. Linear growth sections are indicated with solid lines. Air is supplied to the culture using a sprayer

после этого предела начинает снижаться. Для этого при ежесуточном разведении плотность культуры после разведения должна быть ниже  $2,37 - 0,42 = 1,95$  г/л (1,68 млн кл./мл). Таким образом, из предварительных расчетных оценок следует, что для получения максимальной производительности системы культивирования существует возможность сбора урожая один раз в сутки при поддержании плотности в оптимальном диапазоне. Это позволяет измерять плотность один раз в сутки, что технологически удобно и не требует постоянного контроля плотности.

Экспериментальная реализация такого квазиплотностатного режима культивирования началась с 13-х суток и показана на рис. 1. Для поддержания плотности в оптимальных пределах ежесуточно из общего объема культуры ( $w_0$ ) производился отбор части объема ( $v_{cl}$ ), с соот-

ветствующим доливом свежей среды, который вычислялся по формуле:

$$v_{cl} = w_0 \frac{B - B_{min}}{B}$$

В качестве нижней границы, до которой культура разбавлялась свежей средой, была выбрана плотность  $B_{min} = 1,4$  г/л = 1,2 млн кл./мл. На тринадцатые сутки из культиватора (объемом 1 л) с плотностью  $B = 2,9$  г/л было слито:

$$v_{cl} = 1 \text{ л} \frac{2,9 - 1,4}{2,9} \approx 0,52 \text{ л}$$

После добавления такого же объема среды плотность стала равной 1,4 г/л.

Аналогичная технология разведения повторялась ежесуточно в течение 6 дней, а продуктивность культуры после адаптации в течение 3 суток достигла расчетной величины и далее не изменялась:

$$t_1 = 1 \langle \text{сут.} \rangle;$$

$$P_{m1} = 0,42 \langle z / (л \cdot \text{сут.}) \rangle.$$

Т. е. перед разведением плотность стабильно находилась в оптимальных пределах и составляла 1,82 г/л.

В накопительном процессе роста при достижении плотности культуры верхней границы максимальной продуктивности наблюдается точка перегиба кривой, которая характеризует смену лимитирующего фактора. Учитывая, что световые условия и концентрация минеральных элементов в среде достаточны для достижения более высоких показателей роста, можно предположить, что новым лимитирующим фактором служит снижение доступности углерода для клеток при их концентрациях выше 2,05 млн кл./мл. При этом накопительный процесс роста плотности культуры от 2,37 до 2,75 г/л практически линейно изменяется со временем:

$$6,5 \leq t_2 \leq 11;$$

$${}^2B \langle z \cdot л^{-1} \rangle = P_{m2} t_2 + b_2 = 0,105 \langle z / (л \cdot \text{сут.}) \rangle \times t_2 \langle \text{сут.} \rangle + 1,59 \langle z / л \rangle.$$

Падение продуктивности на этом участке роста в четыре раза может быть объяснено переходом к углеродному лимитированию роста за счет снижения потока углерода в пересчете на отдельную клетку. Для проверки этого предположения был проведен дополнительный опыт, в котором при той же скорости подачи воздуха в культиватор использовали обычную трубку без распылителя. Такой способ значительно снижает растворимость углекислого газа в культуре. Полученные результаты приведены на рис. 2. Для наглядности шкалы плотностей оставлены такими же, как на рис. 1.

На накопительной части роста плотности культуры можно выделить прямолинейные участки, которые с хорошей точностью описываются уравнениями:

$$4 \leq t_3 \leq 6;$$

$${}^3B \langle z / л \rangle = P_{m3} t_3 + b_3 = 0,26 \langle z / (л \cdot \text{сут.}) \rangle \times t_3 \langle \text{сут.} \rangle - 0,35 \langle z / л \rangle;$$

$$6 \leq t_4 \leq 11;$$

$${}^4B \langle z / л \rangle = P_{m4} t_4 + b_4 = 0,09 \langle z / (л \cdot \text{сут.}) \rangle \times t_4 \langle \text{сут.} \rangle + 0,73 \langle z / л \rangle.$$

Из приведенных на рис. 2 данных видно, что смена распылителя на трубку диаметром 2 мм приводит к значительному снижению скорости роста микроводорослей. Так, на участке накопительной кривой с 4-х по 6-е сутки продуктивность составляет всего 0,26 г/л·сут., что более чем в полтора раза ниже, чем при использовании распылителя, а начиная с 6-х суток продуктивность снижается почти в три раза. С учетом того, что световые и другие условия в опыте остались неизменными и позволяют получить более высокую продуктивность культуры, можно констатировать, что к снижению скорости роста микроводорослей приводит снижение растворимости углекислого газа за счет увеличения пузырьков продуваемого через культуру воздуха. При этом сменой лимитирующего фактора роста на 6-е сутки является переход от лимитирования концентрацией растворенного углекислого газа в культуре к лимитированию роста потоком углерода в отдельные клетки при плотности культуры выше 1,3 г/л (=1,1 млн кл./мл).

Анализ накопительной кривой роста *T. viridis* методом линейных сплайнов позволил количественно описать экспериментальные данные при использовании для углеродного обеспечения трубки без распылителя, а также определить оптимальный диапазон плотности культуры с максимальной продуктивностью ( $P_{m3}=0,26$  г/л·сут.). Этот диапазон лежит в области:

$$t_3 = 4 \langle \text{сут.} \rangle;$$

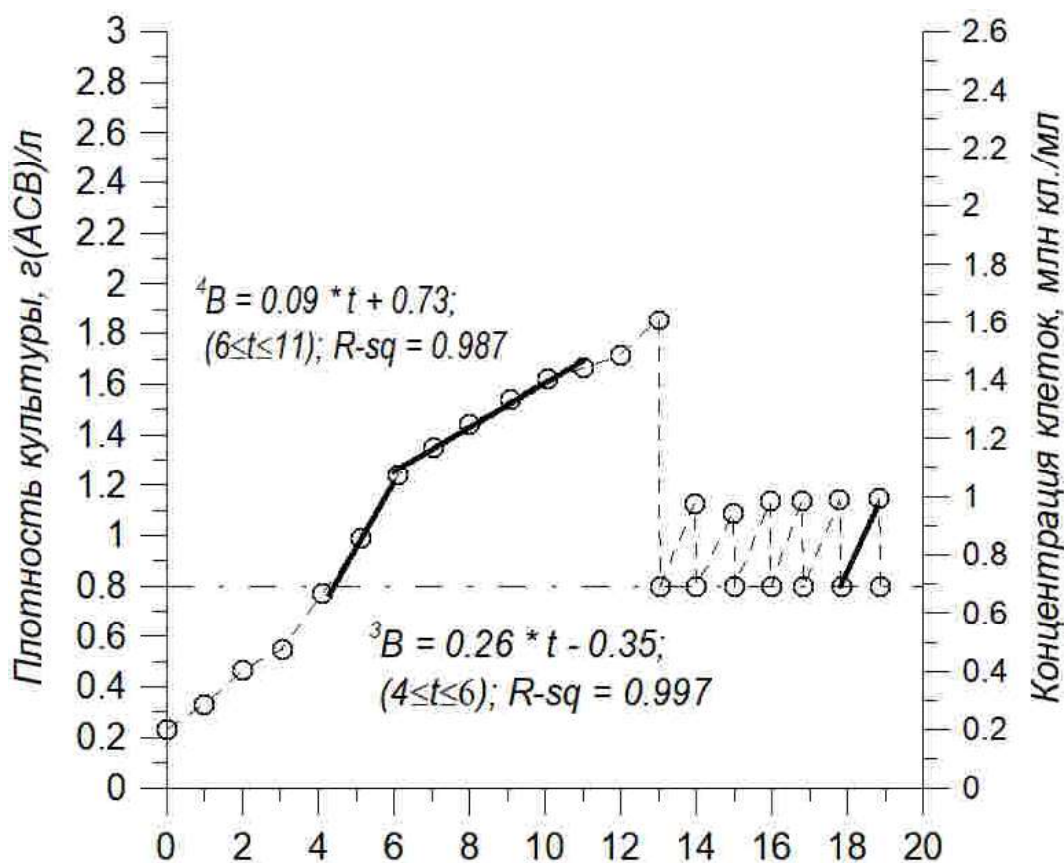
$${}^3B = 0,26 \langle z / (л \cdot \text{сут.}) \rangle 4 \langle \text{сут.} \rangle - 0,35 \langle z / л \rangle = 0,69 \langle z / л \rangle;$$

$$t_3 = 6 \langle \text{сут.} \rangle;$$

$${}^3B = 0,26 \langle z / (л \cdot \text{сут.}) \rangle 6 \langle \text{сут.} \rangle - 0,35 \langle z / л \rangle = 1,21 \langle z / л \rangle.$$

Следовательно, оптимальные границы плотности для получения максимальной продуктивности культуры лежат в пределах 0,69–1,21 г/л. Этот диапазон (1,21–0,69=0,52 г/л) превышает ожидаемый суточный прирост биомассы (0,26 г/л), что позволяет производить отбор культуры один раз в сутки, установив плотность, до которой необходимо разводить культуру, на уровне от 0,69 до 0,95 г/л.

Экспериментальная реализация квазиплотностатной культуры с максимальной для данного (без распылителя) углеродного обеспечения пока-



**Рис. 2.** Динамика роста *Tetraselmis viridis* — в накопительном процессе (в первые 13 суток) и после перехода в квазиплотностатный режим с ежедневным разбавлением культуры до плотности 0,8 г(АСВ)/л. Сплошными линиями выделены линейные участки роста. Подача воздуха в культуру с помощью трубки

**Fig. 2.** *Tetraselmis viridis* growth: cumulative growth (during the first 13 days) and the growth after switching to a quasi-densitostat mode with daily dilution of the culture to the density of 0.8 g(ADW)/L. Linear growth sections are indicated with solid lines. Air is supplied to the culture using a tube

зана на рис. 2 начиная с 13-х суток. В качестве уровня, до которого разводится культура, выбрана плотность  $B_{min}=0,8$  г/л. Объем сливаемой культуры вычислялся по формуле:

$$v_{сл} \langle л \rangle = w_0 \frac{B - B_{min}}{B} = 1л \frac{B - 0,8}{B}.$$

На рис. 2 показаны результаты устойчивого роста *T. viridis* при переходе к ежедневному отбору расчетного объема культуры с соответствующей добавкой свежей питательной среды.

Здесь важно отметить, что продуктивность культуры (при квазиплотностатном режиме управления) в эксперименте выше максимального значения, полученного при накопительном процессе роста. Так, в эксперименте получена устойчивая продуктивность 0,31 г/л·сут., а максимальная расчетная скорость роста оценена в  $P_{m3}=0,26$  г/л·сут. Этот положительный эффект, вероятно, связан с адаптацией культуры к оптимальному расчет-

ному диапазону управления. Также необходимо отметить, что определение лимитирующего фактора позволяет, при необходимости, изменить физико-химические условия среды и увеличить максимальную продуктивность культуры за счет смены лимитирующего фактора.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

На примере лабораторной культуры *Tetraselmis viridis* (Rouchijajnen) показан способ реализации квазинепрерывного режима массового культивирования микроводорослей с максимальной скоростью роста. На первом этапе работы получена экспериментальная накопительная кривая роста культуры в заданных условиях. Накопительная кривая позволила выделить участки роста, которые количественно описаны линейными уравнениями, позволяющими определить точки смены лимитирующих факторов и найти границы плотнос-



тей, в пределах которых микроводоросли растут с максимальной скоростью. Кроме этого, время роста внутри оптимального диапазона плотностей превышает сутки, что позволяет контролировать плотность и осуществлять отбор только один раз в сутки, поддерживая продуктивность на максимальном уровне. На втором этапе работы экспериментально подтверждены расчетные данные и реализован устойчивый квазинепрерывный режим выращивания микроводорослей с максимальной продуктивностью при минимальных затратах на контроль процесса.

Анализ накопительной кривой роста позволил также определить точки смены лимитирующих факторов, определяющих скорость роста культуры при превышении оптимального диапазона плотности. Линейное снижение скорости с ростом плотности предположительно было связано с лимитированием потока углерода в клетку. Это предположение было экспериментально проверено путем снижения скорости растворения углекислого газа в среде за счет увеличения пузырьков воздуха, продуваемого через культуру, с помощью замены распылителя на обычную трубку. В результате была получена накопительная кривая роста, на которой были выделены и количественно описаны линейные участки в виде уравнений. Анализ кривой подтвердил верность предположения и позволил рассчитать оптимальный диапазон плотностей с максимальной продуктивностью при данном типе лимитирования роста культуры. Переход в квазинепрерывный режим выращивания показал возможность получения максимальной продуктивности культуры в данных условиях углеродного обеспечения.

Работа выполнена согласно госзаданию «Исследование механизмов управления производственными процессами в биотехнологических комплексах с целью разработки научных основ получения биологически активных веществ и технических продуктов морского генезиса» (№ 121030300149-0).

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Тренкеншу Р.П. Простейшие модели роста микроводорослей. 2. Квазинепрерывная культура // Экология моря. 2005. Вып. 67. С. 98–110.
2. Лелеков А.С., Тренкеншу Р.П. Двухкомпонентная модель роста микроводорослей в плотностате // Математическая биология и биоинформатика. 2021. Т. 16, № 1. С. 101–114. doi: 10.17537/2021.16.101.

3. Seo S.-H., Ha J.-S., Yoo C., Srivastava A., Ahn C.-Y., Cho D.-H., La H.-J., Han M.-S., Oh H.-M. Light intensity as major factor to maximize biomass and lipid productivity of *Ettlia* sp. in CO<sub>2</sub>-controlled photoautotrophic chemostat // Bioresource Technology. 2017. Vol. 244, part 1. Pp. 621–628. doi: 10.1016/j.biortech.2017.08.020.
4. Спекторова Л.В. Морская флагеллята *Platymonas viridis* (Rouch.) как объект для массового культивирования // Доклады Академии наук СССР. 1970. Т. 192, № 3. С. 662–665.
5. Kleivdal H., Chauton M.S., Reitan K.I. Industrial production of marine microalgae as a source of EPA and DHA rich raw material in fish feed—Basis, knowledge status and possibilities. Bergen: SINTEF Publ., 2013. 88 p.
6. Knowles J., Edwards L. A method for the large-scale culture of algae // Underwater Journal. 1971. Vol. 3, no. 3. Pp. 163–165.
7. Sing S.F., Isdepsky A., Borowitzka M.A., Lewis D.M. Pilot-scale continuous recycling of growth medium for the mass culture of a halotolerant *Tetraselmis* sp. in raceway ponds under increasing salinity: A novel protocol for commercial microalgal biomass production // Bioresource Technology. 2014. Vol. 161. Pp. 47–54. doi: 10.1016/j.biortech.2014.03.010.
8. Lee W.-K., Ryu Y.-K., Choi W.-Y., Kim T., Park A., Lee Y.-J., Jeong Y., Lee C.-G., Kang D.-H. Year-round cultivation of *Tetraselmis* sp. for essential lipid production in a semi-open raceway system // Marine Drugs. 2021. Vol. 19, no. 6. e314. doi: 10.3390/md19060314.
9. Роухияйнен М.И. Новый вид рода *Platymonas* (Chlorophyta) из зеленых водорослей // Новости систематики низших растений. М.—Л.: Наука, 1966. С. 82–85.
10. Ланская Л.А. Культивирование водорослей // Экологическая физиология морских планктонных водорослей (в условиях культур). К.: Наукова думка, 1971. С. 5–21.
11. AlgaeBase. Global algal database of taxonomic, nomenclatural and distributional information. M.D. Guiry (Ed.). Galway: National University of Ireland Publ., 2014. URL: <http://www.algaebase.org> (дата обращения 03.08.2022).
12. Тренкеншу Р.П., Терсков И.А., Сидько Ф.Я. Плотные культуры морских микроводорослей // Известия Сибирского отделения Академии наук СССР. Серия биологических наук. 1981. Т. 15, вып. 3. С. 75–82.
13. Тренкеншу Р.П., Лелеков А.С., Новикова Т.М. Линейный рост морских микроводорослей в культуре // Морской биологический журнал. 2018. Т. 3, № 1. С. 53–60. doi: 10.21072/mbj.2018.03.1.06.

## REFERENCES

1. Trenkenshu R.P. Prosteyshe modeli rosta mikrovodorosley. 2. Kvazinepreryvnaya kul'tura



- [Simplest models of microalgae growth. 2. Quasi-continuous culture]. *Ekologiya morya [Ecology of the Sea]*, 2005, issue 67, pp. 98–110. (In Russian).
2. Lelekov A.S., Trenkenshu R.P. Dvukhkomponentnaya model' rosta mikrovdorosley v plotnostate [Two-component model of microalgae growth in the turbidostat]. *Matematicheskaya biologiya i bioinformatika [Mathematical Biology and Bioinformatics]*, 2021, vol. 16, no. 1, pp. 101–114. doi: 10.17537/2021.16.101. (In Russian).
  3. Seo S.-H., Ha J.-S., Yoo C., Srivastava A., Ahn C.-Y., Cho D.-H., La H.-J., Han M.-S., Oh H.-M. Light intensity as major factor to maximize biomass and lipid productivity of *Ettlia* sp. in CO<sub>2</sub>-controlled photoautotrophic chemostat. *Bioresource Technology*, 2017, Vol. 244, part 1, pp. 621–628. doi: 10.1016/j.biortech.2017.08.020.
  4. Spektorova L.V. Morskaya flagellyata *Platymonas viridis* (Rouch.) kak ob'ekt dlya massovogo kul'tivirovaniya [Sea flagellate *Platymonas viridis* (Rouch.) as an object for mass cultivation]. *Doklady Akademii nauk SSSR [Proceedings of the USSR Academy of Sciences]*, 1970, vol. 192, no. 3, pp. 662–665. (In Russian).
  5. Kleivdal H., Chauton M.S., Reitan K.I. Industrial production of marine microalgae as a source of EPA and DHA rich raw material in fish feed—Basis, knowledge status and possibilities. Bergen: SINTEF Publ., 2013, 88 p.
  6. Knowles J., Edwards L. A method for the large-scale culture of algae. *Underwater Journal*, 1971, vol. 3, no. 3, pp. 163–165.
  7. Sing S.F., Isdepsky A., Borowitzka M.A., Lewis D.M. Pilot-scale continuous recycling of growth medium for the mass culture of a halotolerant *Tetraselmis* sp. in raceway ponds under increasing salinity: A novel protocol for commercial microalgal biomass production. *Bioresource Technology*, 2014, vol. 161, pp. 47–54. doi: 10.1016/j.biortech.2014.03.010.
  8. Lee W.-K., Ryu Y.-K., Choi W.-Y., Kim T., Park A., Lee Y.-J., Jeong Y., Lee C.-G., Kang D.-H. Year-round cultivation of *Tetraselmis* sp. for essential lipid production in a semi-open raceway system. *Marine Drugs*, 2021, vol. 19, no. 6, e314. doi: 10.3390/md19060314.
  9. Roukhiyaynen M.I. Novyy vid roda *Platymonas* (Chlorophyta) iz zelenykh vdorosley [A new species of the genus *Platymonas* (Chlorophyta) of green algae]. In: *Novosti sistematiki nizshikh rasteniy [Novitates systematicae plantarum non vascularium]*. Moscow–Leningrad: Nauka [Science], 1966, pp. 82–85. (In Russian).
  10. Lanskaya L.A. Kul'tivirovanie vdorosley [Cultivation of algae]. In: *Ekologicheskaya fiziologiya morskikh planktonnykh vdorosley (v usloviyakh kul'tur) [Ecological physiology of marine planktonic algae (in cultivation environment)]*. Kyiv: Naukova dumka [Scientific Thought], 1971, pp. 5–21. (In Russian).
  11. AlgaeBase. Global algal database of taxonomic, nomenclatural and distributional information. M.D. Guiry (Ed.). Galway: National University of Ireland Publ., 2014. Available at: <http://www.algaebase.org> (accessed 03.08.2022).
  12. Trenkenshu R.P., Terskov I.A., Sidko F.Ya. Plotnye kul'tury morskikh mikrovdorosley [Dense cultures of marine microalgae]. *Izvestiya Sibirskogo otdeleniya Akademii nauk SSSR. Seriya biologicheskikh nauk [Bulletin of Siberian Branch of the USSR Academy of Sciences. Biology Series]*, 1981, vol. 15, issue 3, pp. 75–82. (In Russian).
  13. Trenkenshu R.P., Lelekov A.S., Novikova T.M. Lineynyy rost morskikh mikrovdorosley v kul'ture [Linear growth of marine microalgae culture]. *Morskoy biologicheskiy zhurnal [Marine Biological Journal]*, 2018, vol. 3, no. 1, pp. 53–60. doi: 10.21072/mbj.2018.03.1.06. (In Russian).

Поступила 22.04.2022

Принята к печати 03.08.2022