

## СООРУЖЕНИЕ ДЛЯ ИНТЕНСИВНОГО ЛАБОРАТОРНОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ

*Хр. Дилов, В. Семененко, Д. Георгиев, Х. Шаренкова, С. Стаев*

*Институт генетики и селекции растений — София*

*(Представлено акад. А. Поповым 30 января 1969 г.)*

Интерес к одноклеточным водорослям в последнее время сильно возрос. Это объясняется доказанной перспективностью водорослей как промышленной культуры, в целях дополнительного получения высокобелковой пищи, кормов и ценных метаболитов [2, 7, 9].

Практическое использование водорослей связано с рядом предварительных лабораторных опытов, требующих технической базы на высоком уровне. Необходимо сконструировать лабораторные сооружения для культивирования водорослей, которые бы поддерживали строго определенные условия. Трудно можно было бы сделать полное обозрение используемых различными лабораториями сооружений, так как они конструируются в соответствии с задачами этих лабораторий [1, 3, 5, 6]. Следует отметить изготовленный Цоглиным с сотр. [8] уникальный прибор для управляемого проточного культивирования с автоматическим регулированием плотности суспензии. Несмотря на большие преимущества этого прибора, он не пригоден для серийной работы.

Одной из первых задач созданной в 1966 году лаборатории по экспериментальной альгологии при Академии сельскохозяйственных наук являлась разработка и конструкция лабораторного культиватора для одноклеточных водорослей, который бы поддерживал необходимые для интенсивного выращивания водорослей условия, а именно: освещение, температуру, барботирование суспензии, и создавал бы возможность стерильной работы. Наряду со всеми этими требованиями, культиватор должен обеспечивать возможность серийной работы, в целях одновременного изучения большего количества штаммов.

Было сконструировано два типа сооружений (рис. 1 и 2), различающихся по способу поддержания температуры. В первом случае температура поддерживается с помощью ультратермостата, а во втором — специально изготовленными нагревателями и охладителями. Сооружения имеют несущую металлическую конструкцию со следующими размерами:

длина 1350 мм, ширина 600 мм и высота 1600 мм, на которой установлены 4 горизонтальные плоскости. На самой нижней помещен ультратермостат типа U 8 /VEB Prüfgeräte, Medingen/Dresden. На следующей плоскости монтированы дроссели для осветительных ламп. На верхней плоскости размещены параллельно две водяных бани размеров 1240/120/300 мм или шесть меньших бань размеров 410/110/300 мм, расположенные по три вдоль в два ряда. Параллельно баням установлены вертикально три ряда осветительных тел, таким образом, чтобы каждая баня освещалась равномерно с обеих продольных сторон. Каждое осветительное тело состоит из 6 ламп БС-40 ватт (Елпром) длиной в 1200 мм. Имеется возможность изменять интенсивность освещения, включая все лампы или половину их. При полном использовании ламп освещение у поверхности культивационных сосудов доходит примерно до 10000 люксов.

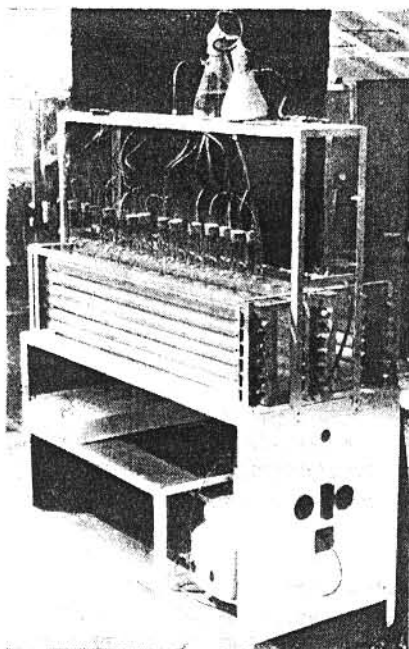


Рис. 1. Сооружение с двумя большими банями. Температуру в банях можно поддерживать или ультратермостатом, или нагревателями и охладителями

На самой верхней плоскости установлены двухлитровые всасывающие колбы, из которых одна с ватой, а другая с дистиллированной водой для фильтрации и увлажнения воздушно-газовой смеси.

В сооружении, где температура поддерживается ультратермостатом, обе бани соединены в одном конце широкой трубой (с диаметром 3—4 см). Ультратермостат выталкивает темперированную воду в первую баню, из которой она переходит во вторую, откуда через водослив возвращается в ультратермостат. Таким образом, температура в обеих банях, где стоят сосуды с сус-

пензией, поддерживается на постоянном уровне. Необходимо следить лишь за тем, чтобы доливать воду в бани за счет испарившейся.

В сооружении второго вида высокая температура поддерживается нагревом, а низкая — доливанием холодной воды в баню. Вдоль дна каждой бани проходит нагреватель, представляющий собой алюминиевую или латунную трубу с диаметром 7,5 мм, в которую введен реотан мощностью в 500 ватт. Его включение и исключение командуется контактным термометром с ртутным реле.

Для охлаждения вдоль дна каждой бани смонтирован охладитель. Он представляет собой также алюминиевую или латунную трубу с перфорированными в шахматном порядке отверстиями с диаметром 1 мм, расположенными на расстоянии 5 см одно от другого. Труба соединяется с водопроводной сетью с помощью электромагнитного вентиля типа ВЕ-1/2, мощностью в 120 ватт. Со своей стороны, вентиль связан с контактным

термометром и ртутным реле, приспособленным к функционированию в направлении, обратном фабричному режиму. Таким образом, при повышении температуры в бани становится возможным включение с помощью контактного термометра, через посредство реле, электромагнитного вентиля, в результате чего холодная вода начинает поступать многочислен-

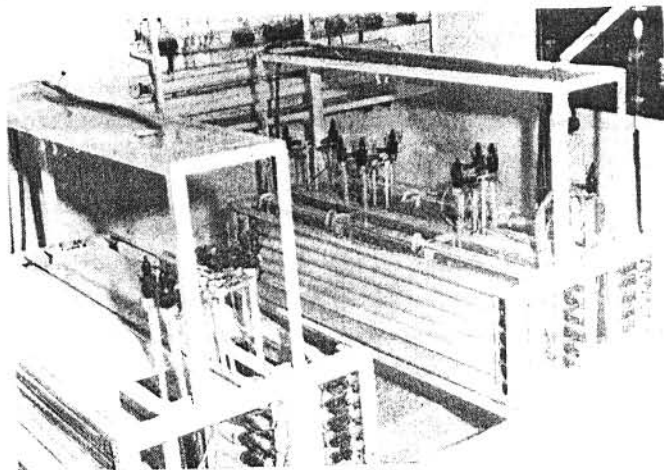


Рис. 2. Вправо — сооружение с шестью небольшими банями. Температура в банях поддерживается нагревателями и охладителями

ными струйками по всей длине бани. Лишняя вода вытекает из бани через водослив. Таким образом, при понижении температуры охлаждение прерывается и приводится в действие нагреватель. Разница между режимом нагревателя и охладителя составляет  $1^{\circ}\text{C}$ . На практике включение нагревателя и охладителя происходит с интервалами. Разумеется, при высоких температурах (выше  $35^{\circ}\text{C}$ ) работает только нагреватель, а при низких (ниже  $25^{\circ}\text{C}$ ) — преимущественно охладитель. В некоторых случаях этот способ поддержания температуры более удобен, чем применение ультратермостата. Он дает возможность соорудить культиватор с 6 небольшими банями для 4—5 сосудов, где можно поддерживать одновременно 6 различных температур.

Получение воздушно-газовой смеси осуществляется по схеме Владимировой и Семеново [1]. Достигнув культиватора, для каждой бани или для трех небольших бань, воздушно-газовая смесь проходит через всасывающие колбы для фильтрации и увлажнения, откуда поступает в газораспределитель, закрепленный с нижней стороны самой высокой плоскости. Газораспределитель представляет собой стеклянный тройник с диаметром 30 мм, закрываемый с обеих сторон каучуковыми пробками. В пробки воткнуты инъекционные иглы S 4. Одинаковое барботирование во всех сосудах обеспечивается одинаковым уровнем суспензии в сосудах и одинаковым диаметром игл.

После испытания нескольких моделей культивационных сосудов, используемых в других лабораториях или сконструированных нами, мы

остановились на наших так называемых плоских сосудах. На рис. 3 подробно даны их размеры. Плоская часть этих сосудов служит для выращивания водорослей. Сосуды отлиты на специальной матрице. Толщина стенок — 4 мм. Их преимущество состоит в их прочности и удобстве работы. В банях они не закрепляются особо. Устойчивость сосудов в

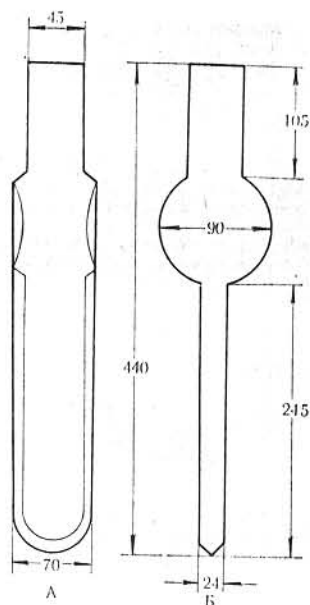


Рис. 3. Плоский культивационный сосуд.  
А — широкая сторона сосуда,  
Б — узкая сторона сосуда

банях обеспечивается тем, что верхние кромки бань слегка скошены, и сосуды плотно прилегают к ним своей расширенной частью. С другой стороны, при расстановке они соприкасаются друг с другом, что еще больше укрепляет их. Таким образом, сосуды очень легко ставить и вынимать из бани, что имеет большое значение для серийной работы. В каждую баню можно ставить одновременно по 15 сосудов, а на один культиватор их приходится 30.

Наибольшим преимуществом этих сосудов, однако, является тонкий слой суспензии. Объем плоской части составляет около 200 мл, а толщина слоя суспензии — 16 мм. С другой стороны, использованы барботеры с Т-образным нижним концом, обеспечивающие хорошее барботирование суспензии.

Для проверки годности сосудов были проведены сравнительные исследования роста *Chlorella pyrenoidosa* Chick., штамм 82, в сконструированных нами плоских сосудах и в круглых сосудах с диаметром 30 мм. Результаты этих опытов указаны на рис. 4. Видно, что рост в плоских сосудах на седьмой день примерно на 40% больше в отношении количества клеток в единице объема

и примерно на 30% больше в отношении количества сухого вещества. Бесспорно, ускоренный рост в плоских сосудах является результатом более полного использования света клетками.

**Закключение.** Предлагаемое лабораторное сооружение для культивирования микроводорослей испытывали в течение двух лет. С ним ставили многочисленные опыты, показавшие, что оно дает воспроизводимые результаты. Большое число сосудов, которые можно использовать одновременно, полностью отвечает требованиям серийной работы. Это сооружение дает возможность изучать рост штаммов при различных температурных режимах. Особенно ценным в этом отношении является культиватор с небольшими банями, где можно одновременно поддерживать шесть различных температур.

Существенным преимуществом является использование культивационных сосудов, в которых слой суспензии сравнительно тонкий и дает возможность полнее использовать свет. Плоскость сосудов позволяет вычислить приходящееся на единицу поверхности освещение.

Простота системы распределения воздушно-газовой смеси обеспечивает одинаковое барботирование суспензии в каждом сосуде. С другой

стороны, стерилизация сосудов, распределителя воздушно-газовой смеси, фильтра и увлажнителя осуществляется легко.

Имеет значение также и то, что культиватор изготовлен из местных материалов, легко регулируется, обслуживается и поддерживается.

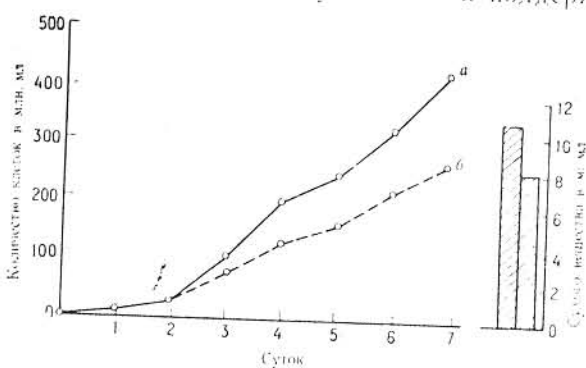


Рис. 4. Рост и продуктивность *Chlorella pyrenoidosa* Chick, штамм 82, выращиваемой в плоских (а) и круглых (б) сосудах

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Владимирова М. Г., В. Е. Семеновко, Интенсивная культура одноклеточных водорослей, изд. АН СССР, Москва, 1962.
2. Кличко-Гурвич Г. Л., В. Е. Семеновко, Изучение интенсивной культуры водорослей, Доклады III координационного совещания по проблеме 9,9 научно-технического сотрудничества СЭВ, Прага, 1965.
3. Ковров Б. Г., А. С. Буданов, О конструировании лабораторных культиваторов для выращивания хлореллы в интенсивном режиме. Управляемое культивирование микроводорослей, Изд. Наука, Москва, 1964.
4. Ковров Б. Г., А. С. Буданов, Малый лабораторный культиватор для интенсивного выращивания хлореллы в управляемых условиях среды. Управляемое культивирование микроводорослей. Изд. Наука, Москва, 1964.
5. Накамура Х., Хлорелла в будущем. Изд. ИЛ, Москва, 1961.
6. Нечас И., Проблематика подбора у *Scenedesmus quadricauda* (Turp.) Breb. Материалы IV Координационного собрания и научного симпозиума по теме VI. 5. 5 СЭВ, Краков, 1966.
7. Ничипорович А. А., О производственной культуре одноклеточных водорослей, Изд. Знание, Москва, 1961.
8. Цоглин Л. Н., В. Е. Семеновко, Ф. М. Бочачер, Ю. Н. Филиповски, Прибор для управляемого проточного культивирования водорослей с автоматическим измерением, регистрацией и регулированием плотности суспензии. Управляемый биосинтез. Изд. Наука, Москва, 1966.
9. Чесноков В. А., Некоторые физиологические аспекты повышения продуктивности одноклеточных водорослей, Вестник ЛГУ, № 9, вып. 2, серия биолог., Ленинград, 1962.