

Департамент образования и науки города Севастополя  
Государственное бюджетное образовательное учреждение  
«Центр дополнительного образования  
«Малая академия наук»

## **Влияние спектрального состава света на продуктивность и биохимический состав микроводорослей**

**Работу выполнила:**

Кондратюк Екатерина Максимовна,  
Учащиеся творческого объединения  
«Биотехнологии» ГБОУ ЦДО «Малая  
академия наук», ГБОУ «Гимназия №1 им.  
А. С. Пушкина», 11 класс;

**Научный руководитель:**

Дорошенко Юлия Валерьевна, педагог ДО  
творческого объединения «Биотехнологии»  
ГБОУ ЦДО «Малая академия наук»,  
научный сотрудник ФИЦ ИнБЮМ,  
кандидат биологических наук

**Научный консультант:**

Лелеков Александр Сергеевич,  
старший научный сотрудник ФИЦ ИнБЮМ,  
кандидат биологических наук

г. Севастополь, 2021

**СОДЕРЖАНИЕ**

ВВЕДЕНИЕ.....	4
РАЗДЕЛ 1. ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ.....	7
1.1. Спектры и фитолампы.....	7
1.2. Способы культивирования микроводорослей.....	10
1.3. Краткая характеристика вида <i>Spirulina (Arthrospira) platensis</i> .....	11
1.4. Экологические факторы, влияющие на скорость роста и биохимический состав низших фотоавтотрофов.....	12
РАЗДЕЛ 2. МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ.....	14
2.1. Поиск коэффициентов.....	14
2.2. Метод оценки предельной продуктивности микроводорослей в условиях искусственного освещения.....	18
2.3. Метод культивирования микроводорослей.....	18
2.4. Постановка эксперимента.....	20
2.5. Метод определения биомассы.....	20
2.6. Метод расчёта КПД фотобиосинтеза у низших фототрофов.....	21
2.7. Метод количественного определения массовой доли хлорофилла, а в биомассе микроводорослей.....	21
2.8. Методы статистической обработки данных.....	22
РАЗДЕЛ 3. РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ .....	23

3.1. Расчётная часть.....	23
3.2. Экспериментальная часть.....	26
ВЫВОДЫ.....	34
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ.....	35

## ВВЕДЕНИЕ

**Актуальность проблемы.** Микроводоросли применяются в самых разнообразных сферах жизни человека. Культуры микроводорослей выращиваются в промышленных масштабах как источник биологически ценных веществ, а также используют в качестве модельного объекта при изучении влияния факторов среды на скорость роста микроорганизмов [1].

Также микроводоросли могут помочь в решении ряда экологических проблем. Например, с развитием технологий может стать возможным замена топлива, которое производится из невозобновляемых ресурсов планеты, на экологически чистое топливо из биомассы микроводорослей.

В настоящее время процесс выращивания довольно дорог, так как требует особой среды с определённым содержанием элементов и света, который является основным фактором, определяющим скорость роста микроводорослей. Кроме того, спектральный состав света во многом определяет не только пигментный, но и биохимический состав биомассы [2]. При избытке красного света в клетках *Spirulina (Arthrospira) platensis* происходит перераспределение синтеза компонентов комплексов фотосистем, при преобладании жёлтого света происходит увеличение скорости синтеза фикоцианина [3].

Для подсветки культуры применяется как естественное (солнечный свет), так и искусственное (множество ламп с различными спектральными показателями [4]) освещение.

Представляет научный интерес изучение того, как разный спектральный состав света от различных источников искусственного освещения влияет на продуктивность и биохимический состав микроводорослей. Оценка зависимости продуктивности от данного параметра поможет узнать, эффективно ли используется электроэнергия, сравнить исследуемые типы ламп, выявив наиболее подходящие.

**Цель и задачи исследования.** *Цель* работы – установить влияние различных типов ламп на рост и биохимический состав *S. (A.) platensis* для их дальнейшего применения в альгологических исследованиях.

Цель работы определила следующие *задачи*:

- оценить максимальную продуктивность культуры микроводорослей в линейной фазе роста в условиях освещения разными типами ламп при одинаковой освещённости культуры;
- вывести коэффициенты перехода от фотометрических величин освещённости в энергетические для четырёх типов ламп;
- исследовать динамику роста *S. (A.) platensis* при освещении разными типами ламп (люминесцентной и светодиодной) при одинаковой освещённости культуры;
- исследовать динамику содержания хлорофилла а у культуры *S. (A.) platensis* при выращивании на разных типах ламп;
- установить влияние различных типов ламп на динамику изменения относительной доли хлорофилла, а в культуре *S. (A.) platensis*.

**Объекты исследования** – четыре лампы, применяемые при выращивании микроводорослей в условиях искусственного освещения, альгологически чистая культура *Spirulina (A.) platensis* (Nordst.) Geitler из коллекции отдела биотехнологии и фиторесурсов ФИЦ ИнБЮМ.

**Предмет исследования** – ростовые и биохимические показатели культуры *S. (A.) platensis* в зависимости от типа источника искусственного освещения.

**Научная новизна полученных результатов.**

Проведённое в данной работе исследование поможет определить интенсивность светового потока, создаваемого различными лампами. Так как величина интенсивности света определяет не только скорость роста микроводорослей, но и биохимический состав клеток, то полученные результаты могут использоваться для разработки математических моделей управления биосинтезом микроводорослей.

**Практическое значение полученных результатов** состоит в том, что впервые рассчитаны коэффициенты перехода от фотометрических к энергетическим световым величинам. Для различных типов ламп впервые проведена оценка предельной продуктивности, величина которой может быть использована при

разработке фотобиореакторов для промышленного культивировании микроводорослей.

***Связь работы с научными программами.*** Научная работа выполнена на базе отделов морской санитарной гидробиологии, биотехнологий и фиторесурсов ФИЦ ИнБЮМ в рамках работы творческого объединения «Микробиология».

***Личный вклад учащегося.*** Согласно рекомендациям научного руководителя, Кондратюк Е.М. принимала непосредственное участие в подборе литературы по выбранной теме. Автором проведена оцифровка спектров излучения различных ламп, по спектрам проведены расчёты суммарной и видимой части световой энергии, определены коэффициенты перехода от фотометрических (лк) к энергетическим ( $\text{Вт}\cdot\text{м}^{-2}$ ,  $\text{мкмоль квантов}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{с}^{-1}$ ) световым единицам, определена предельная продуктивность микроводорослей при их выращивании на различных лампах самостоятельно под руководством А.С. Лелекова.

***Структура и объём работы.*** Научная работа изложена на 37 страницах машинописного текста, состоит из введения, трёх разделов, выводов, списка литературы, который содержит 26 источников. Текст работы иллюстрирован 9 таблицами, 14 рисунками.

## РАЗДЕЛ 1

### ТЕОРЕТИЧЕСКИЙ

#### 1.1. Спектры и фитолампы

##### 1.1.1. Краткая характеристика спектров

Белый свет – сложный свет, образованный из света всех цветов спектра, плавно переходящих друг в друга [5]. Спектры делят на две категории: спектры излучения и спектры поглощения. Выделяют три вида спектров излучения (непрерывные, линейчатые, полосатые) и столько же видов спектров поглощения [6].

*Непрерывные (или сплошные)* - спектры, в которых представлены волны всех частот от  $4 \cdot 10^{14}$  до  $8 \cdot 10^{14}$  Гц, иными словами, всех цветов, плавно переходящие один в другой [6, 7]. Примерами объектов с непрерывным спектром являются Солнце, дуговой фонарь [6], расплавленный металл, пламя свечи [7].

*Линейчатые* - спектры, представленные частотами цветных линий различной яркости, разделённых широкими темными полосами [5, 6]. Их особенностью является то, что линии расположены на конкретных местах, которые соответствуют определённым длинам волн [5]. Такой тип спектров считается основным [6].

*Полосатые (молекулярные)* - спектры, состоящие из отдельных полос, разделённых темными промежутками. Интересно, что каждая полоса представляет собой совокупность огромного числа очень тесно расположенных линий. В отличие от линейчатых спектров, полосатые спектры образуются молекулярными газами, в которых молекулы не связаны или слабо связаны между собой.

##### 1.1.2. Общая характеристика фитоламп

*Фитолампы* (от гр. *φυτό* - растение) – это лампы с повышенным световым излучением в цветовых спектрах, которые необходимы растениям. Они предназначены для влияния на растения человеком. Фитолампы устроены так, что не создают волн в частях спектра, вредных для зелёных клеток растений, но при этом излучают волны именно той длины, которая максимально подходит для потребления растениями и не перегревают их.

Производят три типа фитоламп – *многоцветные, биколорные* (или двухцветные), *одноцветные*. В некоторых моделях доступна регулировка соотношения частей спектров.

Считается, что излучения, при которых достигается ускоренный рост зелёной массы и правильный фотосинтез находятся в красном и синем видимом спектре волн. Таким образом, *многоцветные* лампы являются нерентабельными, так как тратят ресурсы на малоэффективные части спектра.

*Красные фитолампы* предназначены для подсветки растений в фазе цветения и плодоношения. Красное излучение фитолампы оказывает благотворное влияние на рост стеблей и листьев рассады, так как красный свет, обладающий длиной волны в 635-650 нанометров, способствует выработке хлорофилла А [8].

*Синие фитолампы* стимулируют рост, развитие и ветвление ее корневой системы, так как синий цвет с волновой длиной в 430-450 нанометров способствует выработке хлорофилла Б [8].

В конструкции *биколорных* фитоламп синее и красное свечение совмещено, что делает их универсальными источниками искусственного света и расширяет возможности для использования. Чтобы растение получало достаточное количество красных и синих лучей, нужно, чтобы в светильнике были одновременно светодиоды этих двух цветов в пропорции 8:1 или 4:1 [9].

Наилучшее усвоение углекислого газа наблюдается в длинноволновой части спектра, а по направлению к зелёной области спектра процесс фотосинтеза постепенно снижается. В данной части спектра фотосинтез минимальный, так как хлорофилл практически не поглощает зелёные лучи. В сине-фиолетовой области спектра наблюдается второй подъем интенсивности фотосинтеза [10]. Учитывая данные особенности, наиболее благоприятными для выращивания сельскохозяйственных культур являются интенсивности в пределах 150–220 Вт/м<sup>2</sup>, а оптимальный состав излучения имеет следующее соотношение энергий по спектру: 30% в синей области (380–490 нм), 15-20% в зелёной (490–590 нм) и 50-55% в красной области (600–700 нм) [11].

### 1.1.3. Виды фитоламп

По принципу действия лампы можно поделить на четыре вида: это лампы накаливания, люминесцентные лампы, газоразрядные лампы, светодиодные лампы [12]. Рассмотрим каждый из этих видов в контексте использования их как фитоламп.

Лампы *накаливания* нечасто используют как фитолампы. Они обладают рядом недостатков: сильный нагрев во время работы, негативно влияющий на растения, спектр излучения, не охватывающий потребности растений. Если использовать их, то вместе с лампами люминесцентными.

*Люминесцентные* лампы обладают следующими преимуществами: имеют хорошую светоотдачу, потребляют немного энергии, равномерно и хорошо освещают всё помещение. Но выбирая их, необходимо обращать внимание на маркировки, указывающие на наличие синих лучей в излучении. Размещать светильники надо на расстоянии от 30 до 60 см от листовых растений и на 20-30 см от цветущих и декоративных насаждений. Если люминесцентные лампы используются как основной источник света, то главным принципом является достаточное количество света, а не расстояние от лампы до растений.

*Газоразрядные* лампы делятся на ртутные и натриевые. Ртутные являются не очень хорошим вариантом для досвечивания растений. Это связано с тем, что они имеют световой поток в два раза меньше, нежели натриевые, к тому же их световой спектр не подходит для развития растений. Натриевые же лампы светят ярким оранжево-жёлтым светом, что соответствует естественному солнечному освещению. Натриевые лампы отличаются высокой эффективностью, мощностью светового потока и большим ресурсом (от 12 до 20 тыс. часов). Такие лампы чаще всего используют в оранжереях. Спектр таких ламп применяется для улучшения корнеобразования и цветения растений.

*Светодиодные* лампы обладают рядом преимуществ. Они имеют огромный срок службы, минимальное энергопотребление, хороший для растений спектр излучения. Они наиболее компактны, надёжны, долговечны по сравнению с другими лампами [13]. Светоотдача этих ламп ниже, чем ламп дневного света. Они удобны в эксплуатации, так как имеют обычный цоколь и вставляются в

стандартный патрон [9], а также тем, что позволяют создавать системы освещения под определенные спектры [13]. Такие лампы не выделяют тепла, их можно «положить» на растения, благодаря чему сэкономить на мощности ламп [13]. Это так потому, что поверхность светильника покрыта специальной прослойкой, которая не допускает перегрева растений. Светодиодные фитолампы считаются наиболее благоприятным вариантом для досвечивания зелёных насаждений [9].

Самыми популярными фитолампами для растений среди любителей являются люминесцентные и светодиодные лампы, среди владельцев крупных теплиц популярны натриевые и светодиодные лампы [14].

## **1.2. Способы культивирования микроводорослей**

Наиболее распространёнными режимами выращивания микроводорослей являются периодическая (накопительная), непрерывная и полупроточная (квазинепрерывная проточная) культуры [15].

В случае применения периодического режима выращивания в освещаемый фотобиореактор, заполненный питательной средой, вносят инокулят микроводорослей, не контролируя затем состав среды. Процессы роста (увеличение биомассы) в данной системе происходят без вмешательства экспериментатора в состав среды и в течение ограниченного периода времени ввиду появления лимитирующих факторов. Динамика накопления биомассы в данном случае имеет S-образный вид, при этом на неё можно условно выделить несколько фаз роста культуры: лаг-фазу, лог-фазу (логарифмическую, экспоненциальную), фазу линейного роста, фазу замедления роста, стационарную фазу и фазу отмирания [16].

При культивировании в непрерывном режиме экспериментатор регулирует количество биогенных элементов в среде путём добавления свежей среды в фотобиореактор с той же скоростью, с которой происходит удаление суспензии микроводорослей из фотобиореактора (таким образом, общий объём суспензии в культиваторе остаётся постоянным), что способствует поддержанию культуры в логарифмической фазе роста.

В случае использования квазинепрерывного проточного режима выращивания, из фотобиореактора периодически сливают постоянный объём суспензии и добавляют такой же объём питательной среды. Динамическое равновесие (или стационарный режим) достигается единичным соотношением скоростей роста культуры и протока среды (плотность культуры в данном случае остаётся постоянной) [15].

### 1.3. Краткая характеристика вида *Spirulina (Arthrospira) platensis*

*Spirulina (Arthrospira) platensis* – свободно плавающая нитевидная фотосинтетическая бактерия (цианобактерия, сине-зелёная прокариотическая микроводоросль, цианопрокариота), обитающая в тропических и субтропических солёных щелочных озёрах Африки, Южной Америки и Азии с высокой концентрацией карбонатов, бикарбонатов и гидрокарбонатов. Является термофильным организмом с оптимумом в районе 35–37°C, однако может существовать в широком диапазоне дневных и ночных температур.

В настоящее время нет полной однозначности в вопросе систематики цианопрокариот, что вносит значительную номенклатурную путаницу. Изучаемый вид в современной номенклатуре относится к роду *Arthrospira* (*A. platensis* (Nordst.) Gomont 1892). Когда-то *A. platensis* была ошибочно отнесена к роду *Spirulina*. Несмотря на возвращение *S. platensis* родового статуса *Arthrospira*, видовое название *S. platensis* остаётся в употреблении по традиционно-историческим причинам [17].

*S. (A.) platensis* имеет типичный для прокариот низкий уровень клеточной дифференциации. Спиралеобразные неветвящиеся филаменты, состоящие из цилиндрических клеток и окруженные слизистым чехлом, способны к скользящему и вращательному движению. При воздействии различных физических и химических факторов они могут распрямляться [15].

Является фотоавтотрофом, а значит, не нуждается в источнике органических веществ. Типичными пигментами *S. (A.) platensis* являются хлорофилл а, каротиноиды (бета-каротин), фикобилипротеины (С-фикоцианин).

*Spirulina (Arthrospira) platensis* является удобным модельным объектом при исследовании влияния спектрального состава света на продуктивность микроводорослей и перспективным биотехнологическим объектом в целом благодаря особенностям химического состава (широкий спектр биологически активных веществ в составе) и способность к быстрому росту на особых средах [15].

#### **1.4. Экологические факторы, влияющие на скорость роста и биохимический состав низших фотоавтотрофов**

На скорость роста низших фототрофов значительно влияют физико-химические факторы среды, в которой происходит рост культуры. Такими факторами являются уровень освещённости поверхности фотобиореактора, температура и кислотность суспензии микроводорослей, степень разнообразия условий для разных клеток культуры, состав культуральной среды.

Свет является основным фактором среды, определяющим скорость роста микроводорослей. На продуктивность культуры влияет количество и интенсивность получаемой извне энергии в диапазоне ФАР. Известно, что при повышенном излучении в одной из частей спектра происходит перераспределение синтеза компонентов комплексов фотосистем [3].

Температура и кислотность суспензии микроводорослей индивидуально подбираются с учётом расположения оптимумов объекта исследования и цели эксперимента. Оптимальный температурный диапазон для *S. (A.) platensis* находится в пределах 25 °С – 35 °С [18]. Показано [19], что при низкой (20 °С) и высокой (40 °С) температурах у спироулины не наблюдается экспоненциальной фазы роста, значит, экстремальные для вида температуры не могут обеспечить реализацию максимальных скоростей роста. Продуктивность культуры *S. (A.) platensis* увеличивалась с повышением температуры и была максимальной при 35 °С. При дальнейшем повышении температуры она снижалась из-за уменьшения концентрации хлорофилла и других пигментов [18]. При повышении температуры до 45 °С наблюдалось отсутствие деления клеток с исчезновением их пигментации. В целом при превышении значений оптимальных температур процессы

фотосинтеза, дыхания и роста замедляются в результате дисбаланса между потреблением энергии, производством АТФ и инактивации или денатурации белков, участвующих в фотосинтезе.

Состав культуральных сред разрабатывают на основе информации о содержании и функциональной роли элементов в клетках. Низшим фототрофам для нормальной жизнедеятельности необходим целый ряд макроэлементов, участвующих в образовании клеточных структур, и микроэлементов, входящих в состав ферментов или выполняющих специфические функции [15].

Около половины сухого вещества клеток составляет углерод (С). Его источниками являются  $\text{CO}_2$  или органические вещества.

Азот (N), который содержится в белках, нуклеиновых кислотах, фотосинтетических пигментах и др., в природе часто является лимитирующим фактором для роста микроводорослей. В условиях искусственного культивирования источниками азота могут быть нитраты, нитриты, соли аммония, различные органические соединения, а также молекулярный азот.

Для нормального протекания процессов кодирования и реализации наследственной информации, запасания и превращения энергии, обмена углеводов, образования мембран и др. необходима обеспеченность фосфором (P), который входит в состав нуклеиновых кислот, фосфолипидов и др.

Для интенсивного роста многим микроводорослям необходим кальций (Ca), обеспечивающий активность ряда ферментов, а также принимающий участие в механизмах движения, регуляторных ответах на различные виды стрессов, репродуктивных процессах и т. д.

От наличия в среде достаточного количества железа (Fe) зависит интенсивность процессов фотосинтеза, дыхания, N-ассимиляции. Участие в процессах метаболической регуляции микроэлементов настолько множественно, что функциональная роль многих из них до сих пор до конца не изучена, однако бесспорным является то, что их присутствие необходимо для нормального роста и развития культуры [15].

## РАЗДЕЛ 2

### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

#### 2.1. Поиск коэффициентов

Расчётная задача состояла в том, чтобы, зная освещённость поверхности, произвести предельную оценку продуктивности микроводорослей в условиях искусственного освещения. Для решения задачи были взяты четыре лампы, используемые для выращивания микроводорослей: люминесцентные холодные (люм хол), люминесцентные тёплые (люм тёпл), светодиодные яркие (свет ярк), светодиодные тусклые (свет тускл).

##### 2.1.1. Коэффициент перехода из освещённости в облучённость

Формула перехода от освещённости к облучённости:

$$E_e = 1,464 \cdot 10^{-3} \cdot N \cdot E_v, \quad (2.1)$$

где  $E_e$  – облучённость, Вт · м<sup>-2</sup>;  $N$  – отношение величин полной и определяемой люксметром световой энергии;  $E_v$  – освещённость поверхности, лк, (примем  $E_v = 10^4$  лк);  $1,464 \cdot 10^{-3}$  – величина механического эквивалента света, численно равная максимуму абсолютной видности в минус первой степени [4].

Для расчёта величины  $N$  для каждой лампы были получены численные значения спектра излучения ламп, величины излучаемой энергии на соответствующих длинах волн, представленные в нормированном виде и значения относительной видности, соответствующие длинам волн.

В более наглядной форме на графиках представлены численные значения спектров излучения ламп (рис. 2.1–2.4), полученные с помощью спектроколориметра ТКА-ВД/02 и программного обеспечения "Спектрофотометр", а также излучения, улавливаемого люксметром (рис. 2.5). Для поиска коэффициента перехода необходимо найти отношение площадей графиков улавливаемой люксметром части спектра к площади графика полного спектра в исследуемой области (380-779 нм).

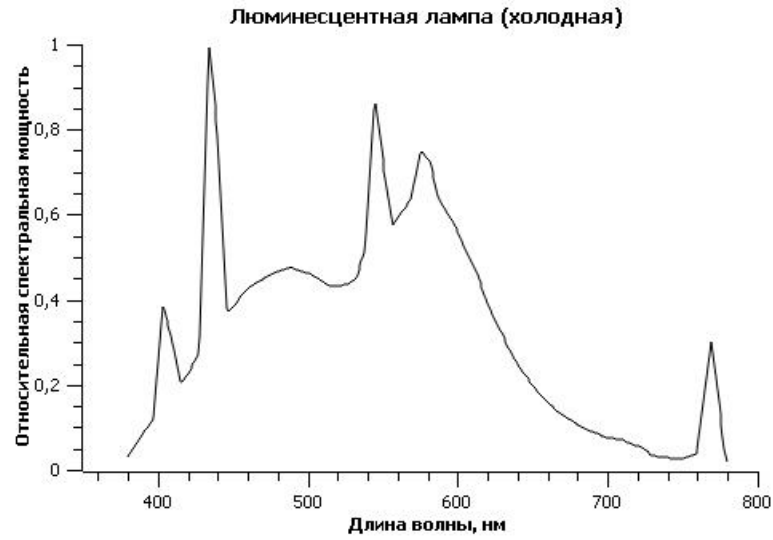


Рис. 2.1. Распределение энергии в спектре холодной люминесцентной лампы

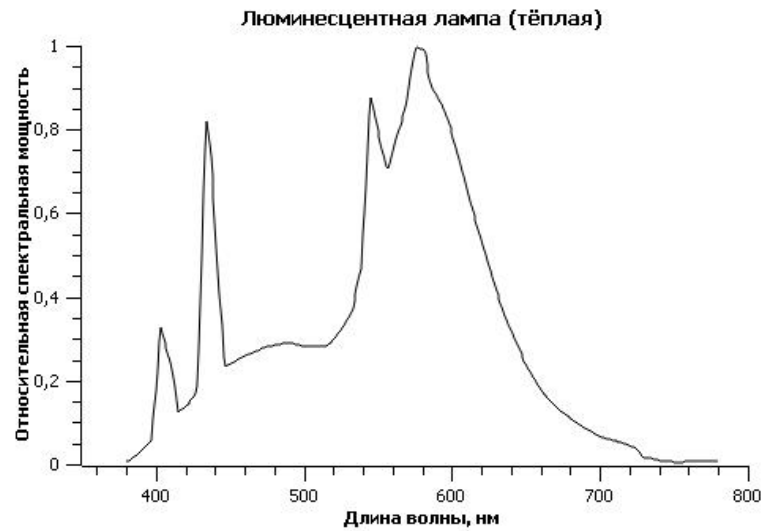


Рис. 2.2. Распределение энергии в спектре тёплой люминесцентной лампы



Рис. 2.3. Распределение энергии в спектре яркой светодиодной лампы



Рис. 2.4. Распределение энергии в спектре тусклой светодиодной лампы

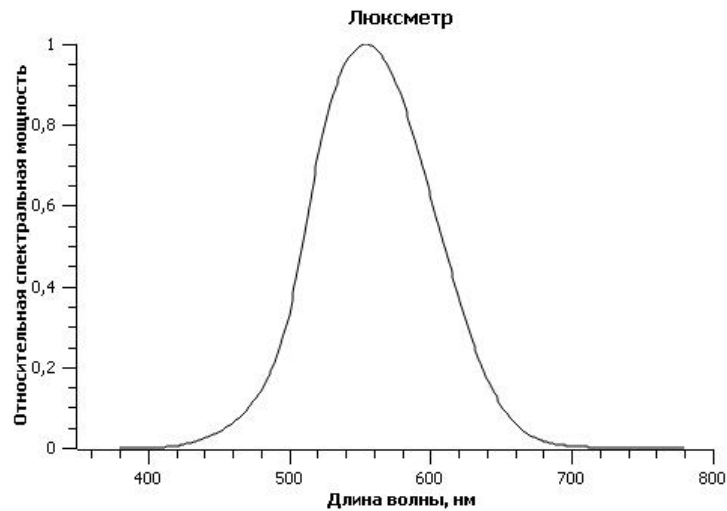


Рис. 2.5. Распределение улавливаемой люксметром энергии

Определены спектры видности для каждой лампы, численно равные произведению относительной мощности  $\Phi_e$  и относительной видности  $V$ ; суммы значений относительной мощности  $\Phi_e$  и спектров видности ( $\Phi_e \cdot V$ ).

Коэффициенты  $N$  для каждой лампы рассчитаны по формуле:

$$N = \frac{\sum_{380}^{779} \Phi_e}{\sum_{380}^{779} \Phi_e \cdot V},$$

где  $N$  – отношение величин полной и видимой человеческим глазом световой энергии источника освещения;

$\sum_{380}^{779} \Phi_e$  – сумма значений относительной мощности  $\Phi_e$ ;

$\sum_{380}^{779} (\Phi_e \cdot V)$  – сумма значений спектров видности  $(\Phi_e \cdot V)$  [4].

Зная значение  $N$  для всех ламп, можно найти коэффициент перехода из освещённости поверхности  $E_v$  в облучённость  $E_e$  (из формулы (2.1)):

$$K = N \cdot 1,464 \cdot 10^{-3}$$

Возведя коэффициент  $K$  в минус первую степень, найдём обратный ему коэффициент перехода из облучённости  $E_e$  в освещённость поверхности  $E_v$ .

Используя формулу (2.1), найдём значения облучённости  $E_e$  для каждой из ламп, принимая освещённость одинаковой.

2.1.2. Поиск коэффициента перехода из освещённости в число мкмоль квантов света на квадратный метр

Для поиска коэффициента перехода необходимо посчитать число молей квантов света, падающих на  $1 \text{ м}^2$  за  $1 \text{ с}$ .

Для этого необходимо найти:

1. Долю световой энергии на каждую длину волны как произведение относительной видности  $V$  на относительную мощность  $\Phi_e$ ;

2. Количество световой энергии на каждой длине волны как отношение относительной мощности  $\Phi_e$  к сумме значений относительных мощностей  $\sum_{380}^{779} \Phi_e$ ;

3. Энергию одного кванта на каждой длине волны как отношение произведения постоянной Планка ( $h = 6,63 \cdot 10^{-34} \text{ Дж} \cdot \text{с}$ ) и скорости света в вакууме ( $c = 3 \cdot 10^8 \text{ м/с}$ ) к длине волны  $\lambda$ , м;

4. Энергию лампы на каждой длине волны как произведение доли энергии на облучённость  $E$ ;

5. Число квантов как отношение энергии лампы к энергии одного кванта для каждой длины волны;

6. Сумму числа квантов света для всех длин волн;

7. Число молей квантов света на  $1 \text{ м}^2$  за  $1 \text{ с}$  как отношение суммы числа квантов света к числу Авогадро ( $N_A = 6,02 \cdot 10^{23}$ ).

Далее рассчитываются коэффициенты перехода из освещённости в число мкмоль квантов света на квадратный метр как отношение числа молей квантов света, падающих на  $1 \text{ м}^2$  за  $1 \text{ с}$ , к освещённости поверхности  $E_v$ , и обратный ему.

## 2.2. Метод оценки предельной продуктивности микроводорослей в условиях искусственного освещения

Для поиска предельной продуктивности микроводорослей в условиях искусственного освещения для каждой лампы была использована формула

$$P = \frac{\eta \cdot \alpha \cdot E_{\text{ФАР}}}{R} \quad [1], \quad (2.2)$$

где  $P$  – суточная продуктивность одного квадратного метра освещаемой поверхности;  $\eta$  – КПД фотобиосинтеза, выраженный в долях ( $\eta = 0,11$ );  $\alpha$  – доля поглощения световой энергии суспензией микроводорослей (поскольку речь идёт о предельной оценке, примем  $\alpha = 1$ );  $E_{\text{ФАР}}$  – суммарное количество ФАР, падающей за сутки на освещаемую поверхность ( $E_{\text{ФАР}} = \frac{E_e}{\tau}$ , где  $\tau = 60^2 \cdot 24$  – коэффициент перевода секунд в сутки, т.к. подсчёт ведётся в сутках);  $R$  – калорийность  $1 \text{ г}$  СВ (примем  $R = 21 \text{ кДж}$ , так как средняя калорийность  $1 \text{ г}$  СВ многих видов микроводорослей составляет  $21 \text{ кДж}$  [20]).

## 2.3. Метод культивирования микроводорослей

Культивирование осуществляли в накопительном режиме в культиваторе (фотобиореакторе) плоскопараллельного типа из органического стекла, имеющего форму параллелепипеда со скошенным дном. Геометрические размеры культиватора: ширина –  $20 \text{ см}$ , высота –  $29 \text{ см}$ , толщина  $2 \text{ см}$ , скос дна –  $22,4 \text{ см}$ .

Перемешивание культуры осуществлялось путём непрерывной подачи воздуха. Освещение в экспериментах было односторонним круглосуточным, искусственные источники света – лампы Philips TL-D 18W/54-765 (люминесцентная лампа) и Uniel 18W 230V/50Hz IP40 (светодиодная лампа) – изменялись в различных опытных вариантах. Средняя освещённость рабочей поверхности культиватора составляла 10 клк. Её измеряли при помощи люксметра Ю-116 по девяти точкам.

Для приготовления сред, необходимых для экспериментов, использовались реактивы квалификации х.ч. Состав среды Заррук [21] приведён на 1 л дистиллированной воды (табл. 2.1).

Таблица 2.1

**Состав питательной среды для культивирования *S. (A.) platensis***

№	Компонент	Навеска, г/л
1	NaHCO <sub>3</sub>	16,8
2	K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,5
3	NaNO <sub>3</sub>	2,5
4	K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1,0
5	NaCl	1,0
6	Na <sub>2</sub> EDTA	0,08
7	FeSO <sub>4</sub> x 7H <sub>2</sub> O	0,01
8	CaCl <sub>2</sub>	0,04
9	MgSO <sub>4</sub> x 7H <sub>2</sub> O	0,2
10	Раствор микроэлементов	1 мл/г
Раствор микроэлементов		
№	Компонент	Навеска, г/л
1	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub>	2,86
2	MnCl <sub>2</sub> x 4H <sub>2</sub> O	1,81
3	ZnSO <sub>4</sub> x 7H <sub>2</sub> O	0,222
4	CuSO <sub>4</sub> X 5H <sub>2</sub> O	0,079
5	(NH <sub>4</sub> ) <sub>6</sub> Mo <sub>7</sub> O <sub>24</sub> x 4H <sub>2</sub> O	0,0229
6	NH <sub>4</sub> VO <sub>3</sub>	0,02296
7	CoCl <sub>2</sub> x 6H <sub>2</sub> O	0,044
8	K <sub>2</sub> Cr <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>4</sub> x 24H <sub>2</sub> O	0,096
9	NiSO <sub>4</sub> x 7H <sub>2</sub> O	0,04785
10	Na <sub>2</sub> WO <sub>4</sub> x 2H <sub>2</sub> O	0,01794

#### **2.4. Постановка эксперимента**

На протяжении всего эксперимента поддерживали постоянный объём суспензии микроводорослей (1 л), доливая перед измерениями дистиллированную воду до нанесённой на внешнюю сторону культиватора метки. Температуру суспензии измеряли непосредственно в культиваторе ртутным термометром. Отбор проб проводился одноканальным дозатором в мерный стакан с разных точек культиватора для получения «средней» пробы. После перемешивания суспензии, которое выполнялось для исключения выпадения части клеток в осадок, её часть переливали в кварцевые кюветы, предназначенные для спектрофотометра Unicо-2100, на котором определяли оптическую плотность культуры на длинах волн 750 и 680 нм. При выходе показаний прибора за границы рабочего диапазона, суспензию в пробирке разбавляли в  $k_{\text{разб}}$  раз дистиллированной водой с помощью градуированной пипетки. На лабораторном ионметре И-160МИ измеряли концентрацию водородных ионов (рН).

#### **2.5. Метод определения биомассы**

Для фильтрации использовали ткань для сит из синтетических нитей 140ПЭ34 (мельничный газ) с диаметром поры 35 мкм. Чистый сухой фильтр взвесили на весах Sartorius L220S, 300 мл культуральной среды отфильтровали, промыли полученную пасту дистиллированной водой, затем высушили при 60 °С и снова взвесили. Определили общую массу спирулины с фильтром, рассчитали массу сухого вещества (г СВ) на фильтре. Этой массе соответствует определённая ранее на длине волны 750 нм оптическая плотность ( $D_{750}$ ). Отношение данных величин и есть искомый коэффициент, равный 1. Для определения биомассы необходимо определить коэффициенты перехода от оптической плотности на длине волны 750 нм ( $D_{750}$ ) к сухому веществу (г СВ).

Метод определения биомассы оптическим способом основан на изменении интенсивности проходящих волн света через суспензию микроводорослей. То, как интенсивно клетки микроорганизмов поглощают и рассеивают свет, зависит от числа и размера клеток. Измерения проводили относительно дистиллированной

воды. Для определения биомассы ( $B$ ) оптическим способом необходимо определить величину оптической плотности ( $D_{750}$ ) на длине волны 750 нм и осуществить переход с помощью коэффициента  $k = 1$ :

$$B = k \cdot D_{750}$$

## 2.6. Метод расчёта КПД фотобиосинтеза у низших фототрофов

Методика расчёта КПД фотобиосинтеза поможет узнать, есть ли разница в эффективности запасаения поглощённой световой энергии.

КПД фотобиосинтеза есть отношение запасённой энергии ( $E_3$ ) к поглощенной энергии ( $E_{II}$ ):

$$\eta = \frac{E_3}{E_{II}} \cdot 100\% \quad [22],$$

где  $E_3 = P_m \cdot S \cdot R \cdot \tau$  ( $P_m$  – продуктивность культуры в линейной фазе (абсолютная скорость роста), г СВ · м<sup>-1</sup> · сут<sup>-1</sup>;  $S$  – площадь рабочей поверхности культиватора;  $R$  – калорийность 1 г СВ, Дж · г<sup>-1</sup>;  $\tau$  – время, сут);

$E_{II} = E_e \cdot K \cdot \alpha \cdot S \cdot t$  ( $E_e$  – освещённость рабочей поверхности;  $K$  – коэффициент перехода из освещённости в облучённость (из лк в Вт·м<sup>-2</sup>);  $\alpha$  – коэффициент поглощения энергии клетками микроводорослей, который для высоких оптических плотностей близок к единице;  $S$  – площадь рабочей поверхности культиватора;  $t$  – время, с).

## 2.7. Метод количественного определения массовой доли хлорофилла, а в биомассе микроводорослей

Пробы высушивали в сушильном шкафу 2В-151 при 60°C, заливали 100%-м ацетоном, механически измельчали в ступке, а затем центрифугировали в течение 10 минут в центрифуге ОПН-3, что приводило к получению экстрактов жирорастворимых пигментов (в том числе хлорофилла, а). Полученными экстрактами наполняли измерительные кюветы спектрофотометра СФ-2000 из

кварцевого стекла и производили измерение величины пропускания относительно кюветы с 100%-м ацетоном [23].

Оптическая плотность ацетонового экстракта хлорофилла, а в области максимума поглощения 663 нм пропорциональна концентрации хлорофилла а в культуре.

## **2.8. Методы статистической обработки данных**

Статистическая обработка данных проведена с помощью прикладных программ «Excel», «SciDavis» и «Grapher». При её проведении использовались стандартные методы работы с данными.

## РАЗДЕЛ 3

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

#### 3.1. Расчётная часть

##### 3.1.1. Коэффициенты перехода из освещённости в облучённость

Для перехода от освещённости к облучённости определили отношение величин полной и видимой человеческим глазом световой энергии источника освещения ( $N$ ). Для этого получили численные значения спектра излучения ( $\lambda$ ) лампы (сделали оцифровку спектра излучения), выяснили величины излучаемой энергии  $\Phi_e(\lambda)$ , соответствующие этим длинам волн и определили значения относительной видности  $V(\lambda)$ . Кроме того, получили спектры видности  $\Phi_e(\lambda) \cdot V(\lambda)$ . Результаты расчётов для разных видов ламп представлены в таблицах 3.1–3.4.

Свет является источником энергии для многих процессов биосинтеза у фотосинтезирующих организмов, поэтому уровень обеспеченности фотосинтетически активной радиацией (ФАР) играет ключевую роль в их жизнедеятельности. В силу ряда причин (исторических, экономических, эксплуатационных) для регистрации этого уровня используются различные приборы: пиранометры, квантометры, люксометры и т. д., поэтому в научных публикациях значения ФАР приводятся в различных единицах измерения. В микробиологической литературе разных лет значение ФАР преимущественно указано в люксах. Однако для сравнительных энергетических оценок, для расчётов эффективности утилизации энергии света при фотобиосинтезе, для оценки эффективности источников света при интенсивном культивировании микроводорослей и т. п. значение ФАР, выраженное в люксах неприменимо. Для таких расчётов требуются значения ФАР, которые выражены в ваттах на квадратный метр или в количестве молей квантов света (эйнштейн), приходящихся на единицу площади в единицу времени [4].

Таблица 3.1

Данные для определения коэффициентов холодной люминесцентной лампы

$\lambda$	$\Phi_e(\lambda)$	$V(\lambda)$	$\Phi_e(\lambda) \cdot V(\lambda)$
380	0,03	0	0
381	0,036	$9,985 \cdot 10^{-6}$	$3,5962 \cdot 10^{-7}$
...	...	...	...
545	0,8627	0,9766	0,8425
...	...	...	...
779	$4,807 \cdot 10^{-2}$	$1,465 \cdot 10^{-5}$	$7,747 \cdot 10^{-7}$
$\Sigma =$	<b>134,73</b>		<b>59,021</b>
$N =$	<b>2,283</b>		

Таблица 3.2

Данные для определения коэффициентов тёплой люминесцентной лампы

$\lambda$	$\Phi_e(\lambda)$	$V(\lambda)$	$\Phi_e(\lambda) \cdot V(\lambda)$
380	0,065	0	0
381	$7,247 \cdot 10^{-3}$	$9,985 \cdot 10^{-6}$	$7,237 \cdot 10^{-8}$
...	...	...	...
545	0,8756	0,9766	0,8551
...	...	...	...
779	0,063	$1,465 \cdot 10^{-5}$	$9,228 \cdot 10^{-8}$
$\Sigma =$	<b>127,42</b>		<b>65,96</b>
$N =$	<b>1,932</b>		

Таблица 3.3

Данные для определения коэффициентов яркой светодиодной лампы

$\lambda$	$\Phi_e(\lambda)$	$V(\lambda)$	$\Phi_e(\lambda) \cdot V(\lambda)$
380	0,4894	0	0
381	0,5026	$9,985 \cdot 10^{-6}$	$5,019 \cdot 10^{-6}$
...	...	...	...
545	0,3739	0,9766	0,3652
...	...	...	...
779	0,5524	$1,465 \cdot 10^{-5}$	$8,0921 \cdot 10^{-6}$
$\Sigma =$	<b>252,49</b>		<b>56,09</b>
$N =$	<b>4,502</b>		

Таблица 3.4

Данные для определения коэффициентов тусклой светодиодной лампы

$\lambda$	$\Phi_e(\lambda)$	$V(\lambda)$	$\Phi_e(\lambda) \cdot V(\lambda)$
380	0,1006	0	0
381	0,1086	$9,985 \cdot 10^{-6}$	$1,084 \cdot 10^{-6}$
...	...	...	...
545	0,5014	0,9766	0,4897
...	...	...	...
779	0,5248	$1,465 \cdot 10^{-5}$	$7,687 \cdot 10^{-6}$
$\Sigma =$	<b>218,31</b>		<b>56,2</b>
$N =$	<b>3,885</b>		

В таблицах 3.5–3.6 приведены получившиеся коэффициенты перехода от фотометрических к энергетическим величин для каждой из ламп.

Таблица 3.5

**Коэффициенты перехода из освещённости в облучённость и обратные им**

Лампа	Люм хол	Люм тёпл	Светод ярк	Светод тускл
Из лк в Вт/м <sup>2</sup>	$3,342 \cdot 10^{-3}$	$2,848 \cdot 10^{-3}$	$6,59 \cdot 10^{-3}$	$5,687 \cdot 10^{-3}$
Из Вт/м <sup>2</sup> в лк	299,23	353,59	151,74	175,83

Таблица 3.6

**Коэффициенты перехода из освещённости в число мкмоль квантов света на квадратный метр в секунду и обратные им**

Лампа	Люм хол	Люм тёпл	Светод ярк	Светод тускл
Из лк в мкмоль/(м <sup>2</sup> ·с)	$1,51 \cdot 10^{-8}$	$1,306 \cdot 10^{-8}$	$3,35 \cdot 10^{-8}$	$2,765 \cdot 10^{-8}$
Из мкмоль/(м <sup>2</sup> ·с) в лк	$6,6224 \cdot 10^7$	$7,6566 \cdot 10^7$	$2,9845 \cdot 10^7$	$3,6172 \cdot 10^7$

3.1.2. Оценка предельной продуктивности микроводорослей в условиях искусственного освещения

Для оценки предельной продуктивности микроводорослей в условиях искусственного освещения для каждой лампы была использована формула (2.2). Данные расчётов приведены в табл. 3.7.

Таблица 3.7

**Предельная продуктивность микроводорослей в условиях освещения разными**

**лампами,  $\frac{\text{г СВ}}{\text{м}^2 \cdot \text{сут}}$ .**

Люм хол	Люм тёпл	Свет ярк	Свет тускл
15,125	12,799	29,826	25,739

Таким образом, расчётным путём показано, что максимальная предельная продуктивность микроводорослей в условиях освещения может быть получена при использовании ярких светодиодных ламп. Наиболее значимые параметры четырёх исследуемых ламп приведены в табл. 3.8, позволяющей в наглядной форме сравнить получившиеся результаты.

Таблица 3.8

**Сравнительная характеристика полученных результатов**

	<b>Люм хол</b>	<b>Люм тёпл</b>	<b>Свет ярк</b>	<b>Свет тускл</b>	<b>Среднее значение для люм</b>	<b>Среднее значение для свет</b>
$E_e, \frac{\text{Вт}}{\text{м}^2}$	33,42	28,28	65,90	56,87	30,85	61,39
$N$	2,283	1,932	4,502	3,885	2,108	4,194
$\text{ЛК} \rightarrow \frac{\text{Вт}}{\text{м}^2}$	$3,342 \cdot 10^{-3}$	$2,848 \cdot 10^{-3}$	$6,590 \cdot 10^{-3}$	$5,687 \cdot 10^{-3}$	$3,095 \cdot 10^{-3}$	$6,139 \cdot 10^{-3}$
$\frac{\text{Вт}}{\text{м}^2} \rightarrow \text{ЛК}$	299,23	353,59	151,74	175,83	326,41	163,79
$\frac{\text{ЛК} \rightarrow}{\text{м}^2 \cdot \text{с}}$ $\frac{\text{МКМОЛЬ}}{\text{м}^2 \cdot \text{с}}$	$1,510 \cdot 10^{-8}$	$1,306 \cdot 10^{-8}$	$3,350 \cdot 10^{-8}$	$2,765 \cdot 10^{-8}$	$1,408 \cdot 10^{-8}$	$3,058 \cdot 10^{-8}$
$\frac{\text{МКМОЛЬ}}{\text{м}^2 \cdot \text{с}} \rightarrow$ $\text{ЛК}$	$6,6224 \cdot 10^7$	$7,6566 \cdot 10^7$	$2,9845 \cdot 10^7$	$3,6172 \cdot 10^7$	$7,1395 \cdot 10^7$	$3,3009 \cdot 10^7$
$P, \frac{\text{г СВ}}{\text{м}^2 \cdot \text{сут}}$	15,125	12,799	29,826	25,739	13,962	27,783

### 3.2. Экспериментальная часть

Из-за того, что значения коэффициентов внутри одного класса ламп близки, эксперименты проводились на одной из ламп каждого типа – люминесцентной Philips TL-D 18W/54-765 (люм. хол.) и светодиодной Uniel 18W 230V/50Hz IP40 (свет. ярк.).

### 3.2.1. Стабилизация внешних факторов

На скорость роста культуры микроводорослей влияет не только спектр источника освещения, но и множество других факторов, например, температура и концентрация водородных ионов (рН) в суспензии микроводорослей. Для исследования влияния света на рост культуры необходимо максимально стабилизировать все внешние факторы.

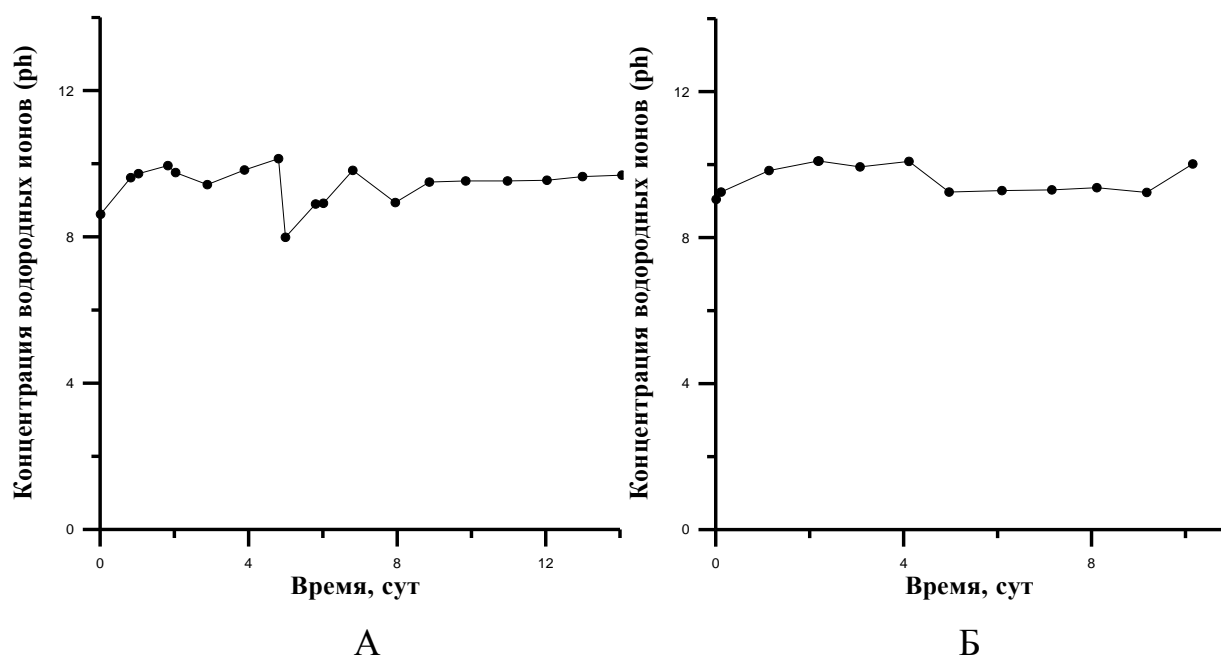


Рис. 3.1. Динамика рН культуральной среды в эксперименте А) с люминесцентной лампой, Б) со светодиодной лампой

При высоких значениях рН культуральной среды ( $>11.5$ ) углерод представлен в растворе только карбонат-ионами [24], которые не поглощаются клетками спирулины, что приводит к остановке роста плотности культуры. Поэтому рН стабилизировали в диапазоне от 8 до 10 единиц (рис. 3.1).

Экстремальные для вида температуры (значительно ниже или выше оптимума) не могут [19] обеспечить реализацию максимальных скоростей роста. Процессы фотосинтеза, дыхания и роста в целом замедляются при превышении значений оптимальных температур [18]. Поэтому температуру культуры стабилизировали в диапазоне от  $25^{\circ}\text{C}$  до  $30^{\circ}\text{C}$ , который входит в температурный оптимум вида (рис. 3.2).

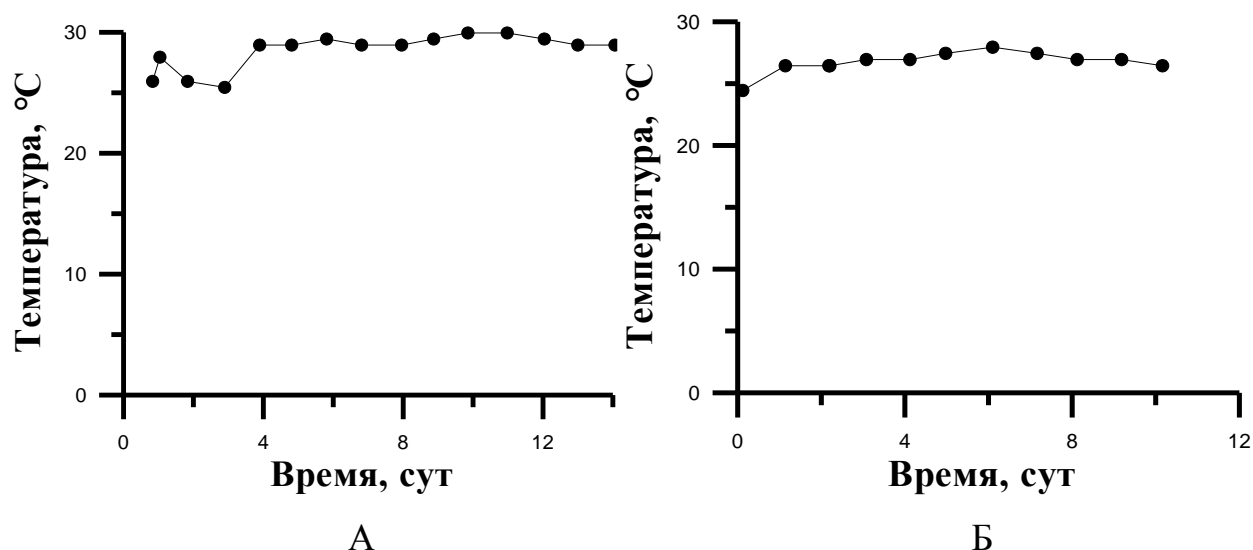


Рис. 3.2. Динамика температуры в эксперименте А) с люминесцентной лампой, Б) со светодиодной лампой

### 3.2.2. Накопительные кривые роста культуры *Spirulina (A.) platensis*

Были получены накопительные кривые роста культуры *S. (A.) platensis* в двух экспериментальных вариантах (искусственное освещение в первом варианте реализовалось с помощью люминесцентной, во втором – с помощью светодиодной ламп). Полученные данные представлены на рис. 3.3.

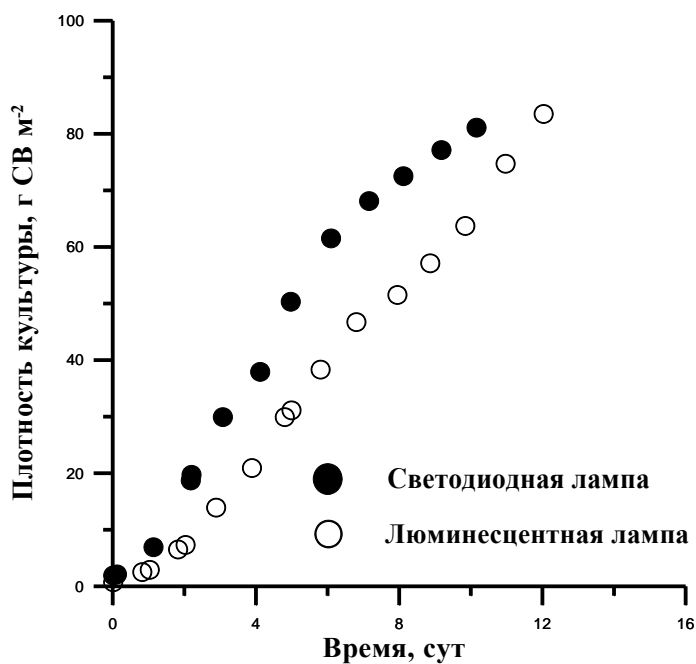


Рис. 3.3. Динамика роста культуры *Spirulina (A.) platensis* в двух экспериментальных вариантах

### 3.2.3. Определение продукционных характеристик культуры.

Для логарифмической фазы роста культуры рассчитывали максимальную удельную скорость роста  $\mu_m$ , которая в этой фазе постоянна [16]. Динамика биомассы  $B$  в этой фазе имеет вид:

$$B = B_0 \cdot e^{\mu_m \cdot t}, \quad (3.1)$$

где  $B_0$  – начальное значение плотности культуры при  $t = 0$ .

Определим  $\mu_m$  с помощью аппроксимации экспоненциальной фазы роста (с 0 по 2 сут) выражением (3.1). Результаты представлены на рис. 3.4.

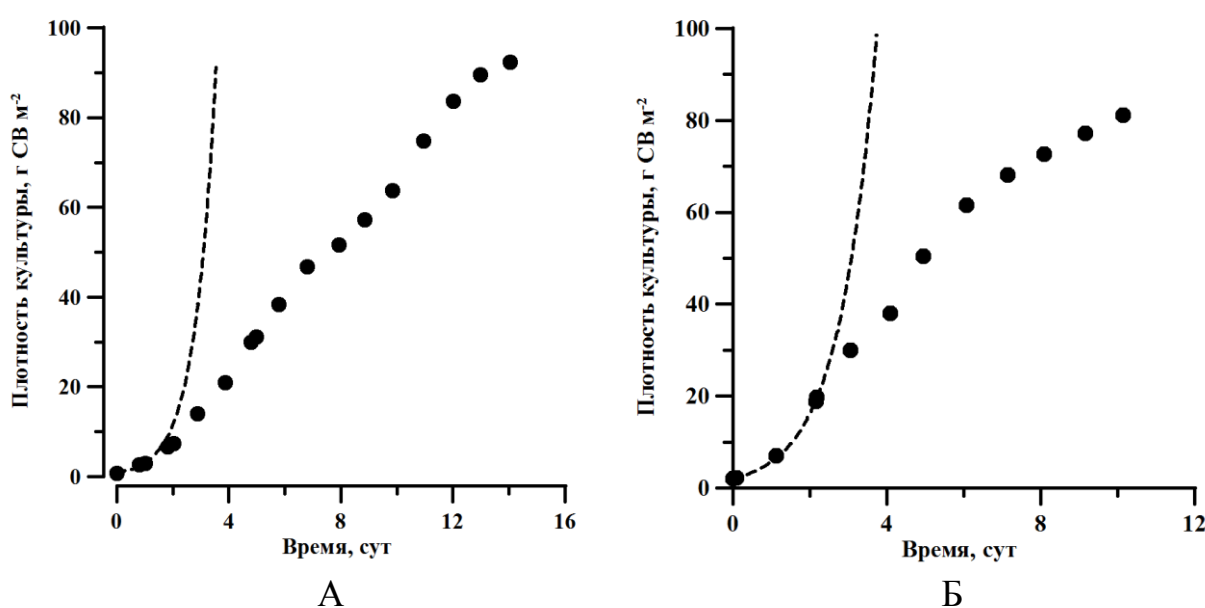


Рис. 3.4. Аппроксимация экспоненциальной фазы роста для различных вариантов эксперимента: А) люминесцентные лампы, Б) светодиодные лампы

Полученное значение  $\mu_m$  составляет  $1,11 \text{ сут}^{-1}$  для люминесцентных и  $1,18 \text{ сут}^{-1}$  для светодиодных ламп. Разница между этими величинами незначительна, так как лежит в границах ошибки измерения. Полученные значения  $\mu_m$  показывают, что удвоение численности клеток (биомассы) происходило быстрее, чем за сутки. Таким образом, на начальном этапе роста культуры нельзя выявить значимых различий влияния спектрального состава света на продукционные характеристики *S. (A.) platensis*.

В фазе линейного роста определяли максимальную продуктивность культуры  $P_m$  как тангенс угла наклона линейного участка кривой роста. Динамика биомассы  $B$  в этой фазе имеет вид:

$$B = B_l + P_m \cdot (t - t_l), \quad (3.2)$$

где  $B_l$  – величина плотности культуры в момент начала линейной фазы роста  $t_l$ .

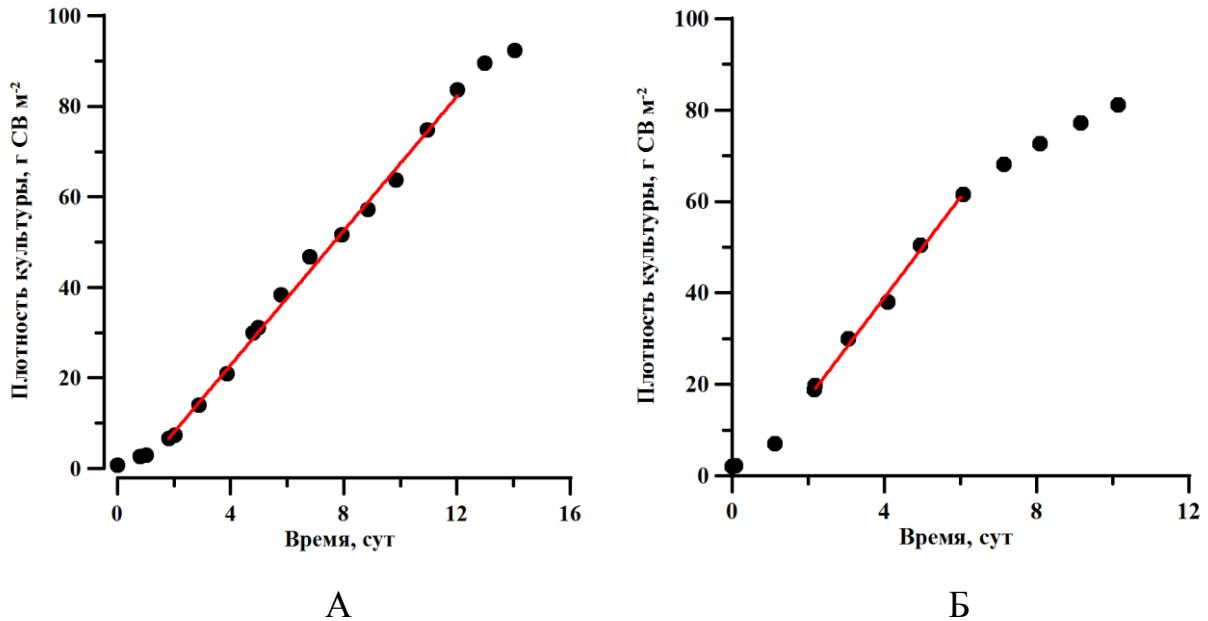


Рис. 3.5. Аппроксимация линейной фазы роста для различных вариантов эксперимента: А) люминесцентные лампы, Б) светодиодные лампы

Значение максимальной продуктивности  $P_m$  для люминесцентной лампы оказалось равным  $7,42 \text{ г СВ м}^{-2} \text{ сут}^{-1}$ , а для светодиодной –  $10,98 \text{ г СВ} \cdot \text{м}^{-2} \text{ сут}^{-1}$ . Для линейной фазы роста можно утверждать, что максимальная продуктивность выше у культуры, освещаемой светодиодной лампой, практически в полтора раза. Значит, тип лампы значимым образом влияет на продуктивность культуры в линейной фазе.

Искусственный источник освещения излучает энергию  $E_e$ , которую поглощает культура. При одинаковой освещённости, уровень облучённости культуры, для освещения которой используется светодиодная лампа, почти вдвое больший, чем у культуры, для освещения которой используется люминесцентная лампа.

Скорость роста культуры в логарифмической фазе роста мало зависит от облученности поверхности фотобиореактора, в линейной же фазе роста наблюдается увеличение продуктивности почти в 1,5 раза.

### 3.2.4. Расчёт КПД фотобиосинтеза

Расчёт необходим для оценки эффективности запасаения энергии света в культуре. По литературным данным, предельный КПД фотобиосинтеза составляет 11%.

Площадь рабочей поверхности культиватора составляла 0,06 м<sup>2</sup> в обоих экспериментальных вариантах. Калорийность биомассы  $R$  приняли равной 21 кДж, так как средняя калорийность 1 г СВ многих видов микроводорослей составляет 21 кДж [20]. Результаты расчётов представлены в таблице 3.9.

Таблица 3.9

#### Расчёт коэффициента полезного действия фотобиосинтеза

	$E_z$ , кДж	$E_{II}$ , кДж	$\eta$ , %
Люминесцентные	7,48	128,36	5,83
Светодиодные	11,07	254,60	4,35

При одинаковой мощности потребления (18 В), соответственно, одинаковых расходах на электроэнергию, светодиодные лампы в типе выдают в 1,98 раза больше энергии света, причём в абсолютных значениях запасётся в 1,48 раза больше, чем при использовании люминесцентных ламп.

КПД фотобиосинтеза при освещении светодиодной лампой составляет 0,75 от КПД фотобиосинтеза при использовании люминесцентной лампы. Разница, вероятно, объясняется тем, что зависимость эффективности запасаения энергии света от количества последней нелинейна [27], ведь ферментативные комплексы фотосистем имеют, как и любые ферментативные комплексы, ограничения в максимальной пропускной способности на единицу времени.

Однако для фактического применения ламп важен не столь КПД фотобиосинтеза, сколько отношение абсолютных значений с учётом затрат электроэнергии, условно равных в обоих экспериментальных вариантах. Таким образом, светодиодные лампы являются более эффективными по сравнению со светодиодными.

### 3.2.5. Динамика изменения концентрации хлорофилла.

Немаловажным показателем влияния света на культуру является наличие различных фотосинтетических пигментов и скорость их синтеза. Известно [3], что спектральный состав света определяет соотношения между пигментами. Хлорофилл, а является одним из важнейших пигментов в фотосистемах, потому что является компонентом реакционных центров фотосинтеза [25]. Поэтому для оценки влияния спектрального состава света на биохимический состав клеток культуры *Spirulina (A.) platensis* исследовали динамику изменения концентрации хлорофилла, а (рис. 3.6).

В ходе эксперимента выполняли параллельные измерения хлорофилла, а и соотношения  $\Delta D_{680} = D_{680} - D_{750}$ . Методом линейной аппроксимации рассчитали коэффициент пропорциональности между ними. Результаты измерений представлены на рис. 3.6.

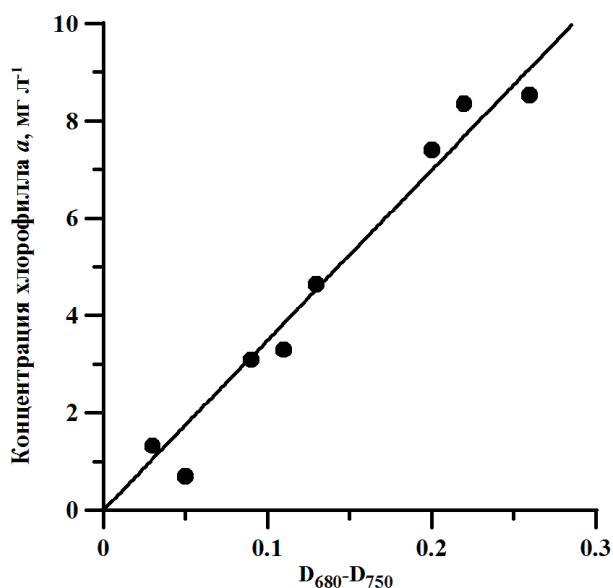


Рис. 3.6. Определение коэффициента пропорциональности от единиц оптической плотности к концентрации хлорофилла

Коэффициент пропорциональности единиц оптической плотности к концентрации хлорофилла а составил  $34,93 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1} \cdot \text{ед. опт. пл.}^{-1}$ . Была получена динамика концентрации хлорофилла а в культуре. Полученные данные представлены на рис. 3.7.

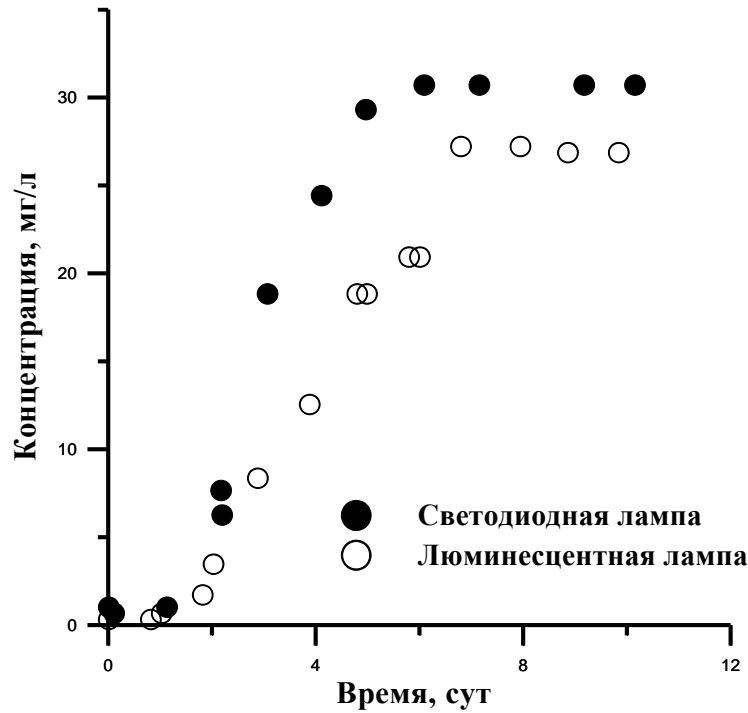


Рис. 3.7. Динамика концентрации хлорофилла а в культуре

По графикам динамики синтеза определили максимальную скорость синтеза хлорофилла а в биомассе  $\rho_m$  как тангенс угла наклона линейного участка кривой. Динамика концентрации  $C$  в этой фазе имеет вид:

$$C = C_{chl} + \rho_m \cdot (t - t_{chl}), \quad (3.3)$$

где  $C_{chl}$  – величина плотности культуры в момент начала линейной фазы роста  $t_{chl}$ .

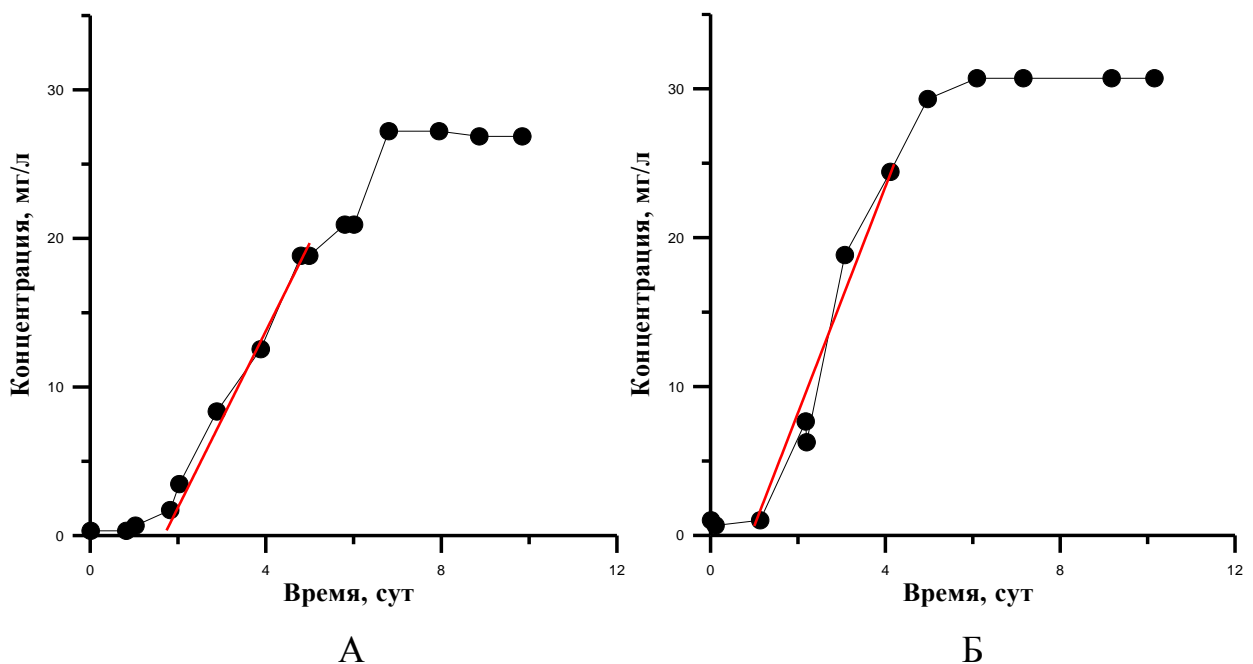


Рис. 3.8. Определение максимальной скорости синтеза линейной аппроксимацией А) люминесцентные лампы, Б) светодиодные лампы

Значение  $\rho_m$  для люминесцентной лампы составило  $5,93 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1} \cdot \text{сут}^{-1}$ , для светодиодной лампы –  $7,59 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1} \cdot \text{сут}^{-1}$ . Максимальная скорость синтеза хлорофилла, а у культуры микроводорослей выше при освещении светодиодной лампой. Значительную роль играет и изменение доли хлорофилла а в биомассе с течением времени  $\beta$ :

$$\beta = \frac{\pi}{B} \cdot 100 \% \quad (3.4)$$

Динамика относительного содержания хлорофилла, а представлена на рис. 3.9.

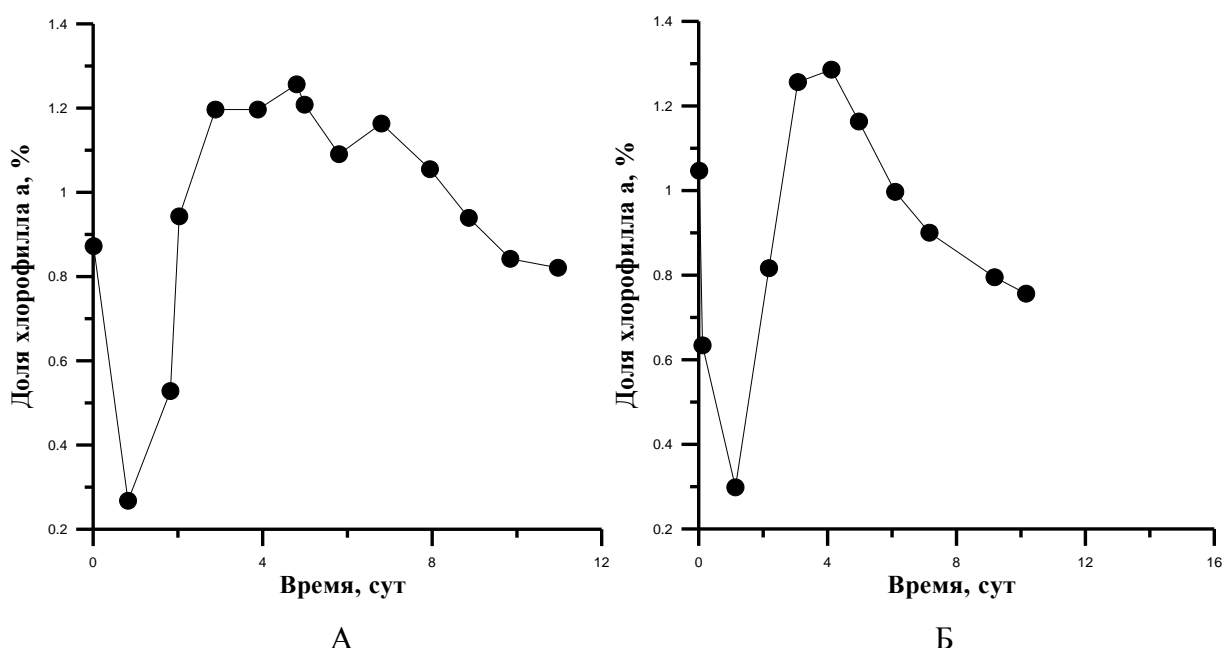


Рис. 3.9. Динамика относительного содержания хлорофилла, а в эксперименте А) люминесцентные лампы, Б) светодиодные лампы

На обоих графиках наблюдается резкое снижение доли хлорофилла, а в биомассе, что, вероятно, можно рассматривать как метаболический сбой при изменении условий среды [15], затем – её увеличение практически до максимума и постепенный спад. Известно [15], что азот является ключевым биогеном, наличие которого в среде непосредственно отражается на содержании фотосинтетических пигментов у микроводорослей. Таким образом, снижение доли хлорофилла, а после четвертых суток эксперимента, согласно принципу лимитирующих факторов, который наглядно демонстрируется при работе с накопительными культурами [26], вызвано недостатком азота.

## ВЫВОДЫ

1. Выведены коэффициенты перехода от фотометрических величин освещённости в энергетические для четырёх типов ламп. Показано, что отношение величин испускаемой лампой и регистрируемой люксметром световой энергии зависит от источника освещения и изменяется от 1,93 до 4,5. При одинаковой освещённости количество энергии в области ФАР, поступающее на поверхность фотобиореактора, почти вдвое больше для светодиодной лампы.

2. Расчётным путём показано, что при одинаковой (10 клк) освещённости предельная продуктивность культуры микроводорослей составляет  $29,8 \frac{\text{г СВ}}{\text{м}^2 \cdot \text{сут}}$  при использовании ярких светодиодных ламп.

3. Исследована динамика роста *S. (A.) platensis* при освещении двумя разными типами ламп при одинаковой освещённости по накопительным кривым роста культуры.

4. Полученное значение максимальной удельной скорости роста культуры  $\mu_m$  составляет  $1,11 \text{ сут}^{-1}$  для эксперимента с люминесцентными и  $1,18 \text{ сут}^{-1}$  со светодиодными лампами. На начальном этапе роста культуры не удалось выявить значимых различий влияния типа лампы на продукционные характеристики *S. (A.) platensis*.

5. Значение максимальной продуктивности  $P_m$  в эксперименте с люминесцентной лампой оказалось равным  $7,42 \text{ г СВ м}^{-2} \text{ сут}^{-1}$ , со светодиодной –  $10,98 \text{ г СВ м}^{-2} \text{ сут}^{-1}$ . Таким образом, тип лампы значимым образом влияет на продукционные характеристики культуры в линейной фазе роста.

6. Коэффициент эффективности запасаения световой энергии при освещении люминесцентной лампой составил 5,83%, при освещении светодиодной - 4,35%. Вероятно, это связано с особенностями работы фотосинтетических ферментативных комплексов.

5. Исследована динамика концентрации хлорофилла а в культуре *S. (A.) platensis* при освещении двумя разными типами ламп при одинаковой освещённости. Максимальная скорость синтеза хлорофилла а у культуры

микроводорослей выше при освещении светодиодной лампой –  $151 \text{ мг м}^{-2} \text{ сут}^{-1}$ , а при освещении люминесцентной лампой составила  $119 \text{ мг м}^{-2} \text{ сут}^{-1}$ .

6. Влияние на продуктивность и биохимический состав микроводорослей оказывает не спектральный состав света, а количество световой энергии в необходимом диапазоне.

## СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

- 1 AlgaeBase – a global algal database of taxonomic, nomenclatural and distributional information: [Электронный ресурс/]. URL: <https://www.algaebase.org>
- 2 Borowitzka M.A., Borowitzka L.J. Microalgal biotechnology. // Cambridge University Press. – 1998. – 480 p.
- 3 Kumar M., Kulshreshtha J., Singh G.P. Growth and biopigment accumulation of cyanobacterium *Spirulina platensis* at different intensities and temperature // Braz. J. Microbiol. 2011. V. 42. P. 1128–1135.
- 4 Zarrouk C. Contribution à l'étude d'une cyanophycée. Influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la croissance et la photosynthèse de *Spirulina maxima* (Setch et Gardner) Geitler: Ph. D thèse. Paris, 1966 – 114 p.
- 5 Белянин В. Н., Сидько Ф. Я., Тренкеншу А. П. Энергетика фотосинтезирующей культуры микроводорослей. – Наука. Сиб. отд-ние, 1980.
- 6 Белянин В.Н., Сидько Ф Я., Тренкеншу А.П. Энергетика фотосинтезирующей культуры микроводорослей. – Новосибирск: Наука, 1980. – 136 с.
- 7 Бирков С.В., Пилюгин К.А., Витман С.В. Виды ламп освещения //Новая наука как результат инновационного развития общества. Сбор. статей междунаро. научно-практич. конф. – 2017. – Ч. 5. – С.120–122.
- 8 Валеев Р.А. Повышение эффективности облучения меристемных растений с использованием светодиодных установок: автореферат дис. на соискание ученой степ. к.техн.н: 05.20.02. электротехнологии и электрооборудование в сельском хозяйстве. Москва. – 2014, 18 с.
- 9 Геворгиз Р. Г. Количественное определение массовой доли хлорофилла а в сухой биомассе *Spirulina* (*Arthrospira*) *platensis* North. Geitl. – 2017.
- 10 Геворгиз Р. Г., Шматок М. Г. Лелеков А.С. Расчёт КПД фотобиосинтеза у низших фототрофов. 1. Непрерывная культура. // Экология моря. - 2005. - Вып. 70. - С. 31-36.
- 11 Геворгиз Р.Г., Малахов А.С. Пересчёт величины освещённости фотобиореактора в величину облучённости: учеб.-метод. пособие.

- Севастополь: ООО «Колорит», 2018, 60 с. <https://doi.org/10.21072/978-5-6041191-4-3>
- 12 Гужов С., Полищук А., Туркин А. Концепция применения светильников со светодиодами совместно с традиционными источниками света //Современные технологии автоматизации. – 2008. – №1. – С. 14–18.
- 13 Дробецкая И. В. Влияние условий минерального питания на рост и химический состав *Spirulina platensis* (Nordst.) Geitler. – 2005.
- 14 Дудина П.С., Ставицкий А.В. Влияние спектра излучения фитолампы и её применение в растениеводстве в домашних условиях. //Актуальные вопросы науки и хозяйства: новые вызовы и решения. Сборник материалов LI Международной студенческой научно-практической конференции.– 2017. –Ч. 2.– С.54–57.
- 15 Ефимова Т.В. Влияние спектрального состава света на содержание пигментов в клетках микроводорослей // Морской экологический журнал. – 2011. – № 2. – С. 22–28.
- 16 Козел Н.В., Доманский В.П., Мананкина Е.Е., Адамчик К.О. и др. Влияние спектрального состава светодиодного излучения на структуру фотосинтетического аппарата *Spirulina platensis* // Весці Нацыянальнай акадэміі навук Беларусі. – 2015. – № 2. – С. 44–49.
- 17 Куприянова Е. В., Самылина О. С. CO<sub>2</sub>-концентрирующий механизм и его особенности у галоалкалофильных цианобактерий // Микробиология. – 2015. – Т. 84, № 2. – С. 144–159.
- 18 Лелеков А. С., Тренкеншу Р. П. Фундаментальные принципы моделирования фотобиосинтеза микроводорослей //Вопросы современной альгологии. – 2018. – Т. 18. – №. 3.
- 19 Мякишев Г.Я. Физика. 11 кл.: учебник для общеобразовательных организаций: базовый и профильный уровни /Г.Я. Мякишев, Б.Б. Буховцев, В.М. Чаругин; под ред. Н. А. Парфентьевой. - 23-е изд. – М.: Просвещение, 2014. – 399 с.
- 20 Перышкин А.В. Физика. 9 кл.: учебник /А.В. Перышкин, Е.М. Гутник. – М. : Дрофа, 2014. – 319 с.

- 21 Прокофьев А.Ю., Туркин А.Н., Яковлев А.А. Перспективы применения светодиодов в растениеводстве //Полупроводниковая светотехника. – 2010. – №5. –С. 60–63.
- 22 Тренкеншу Р.П. Простейшие модели роста микроводорослей. 1. Периодическая культура //Экология моря. – 2005. – Вып. 67. – С. 89-97.
- 23 Тренкеншу Р.П., Лелеков А.С. Моделирование роста микроводорослей в культуре. – Белгород: ООО «Константа», 2017. – 152 с. DOI – <https://doi.org/10.21072/978-5-906952-28-8>.
- 24 Физика: учебник для 9-го класса / И.В. Кривченко, А.Ю. Пентин. – Москва: БИНОМ. Лаб. знаний, 2015. – 154 с.
- 25 Холл Д., Рао К. Фотосинтез: пер. с англ. М.: Мир. – 1983. – 134 с.
- 26 Шапошников А.В., Смолев К.С. Анализ устройств для досвечивания растений //Электрооборудование и электротехнологии в сельском хозяйстве. Сборник научных трудов по материалам IV Международной научно-практической конференции. – 2019. – С. 210–213.
- 27 Шапошников А.В., Чекрыгин М.В. Анализ современных фитоламп // Сборник научных трудов по материалам III Всероссийской научно-практической конференции, 2018. – С. 53–56.