

## КУЛЬТИВИРОВАНИЯ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ CLORELLA С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПРОМЫШЛЕННЫХ СТОЧНЫХ ВОД

**Зибарев Н.В., Торгаева Е.А., Политаева Н. А.**

ФГАОУ ВО «Санкт-Петербургский политехнический университет Петра Великого»,  
г. Санкт-Петербург, Российская Федерация

**Аннотация.** В работе исследована возможность использования сточных вод ООО «Пивоваренной кампании «Балтика» в качестве основы питательной среды для культивирования микроводорослей. Было изучено влияние различного разбавления суспензии микроводорослей *Chlorella sorokiniana* выращенные на питательной среде с неочищенными сточными водами пивоваренной промышленности (СВ) в процентном соотношении: СВ:Х 70:30; 50:50, 30:70 на скорость культивирования и жизнеспособность микроводорослей.

**Ключевые слова.** Микроводоросли, питательная среда, очистка сточных вод, пивоваренная промышленность.

## CULTIVATION OF CLORELLA MICROALGAE WITH THE USE OF INDUSTRIAL WASTEWATER

**Zibarev N.V., Torgaeva E.A., Politaeva N.A.**

Federal State Autonomous Educational Institution of Higher Education "Peter the Great St. Petersburg Polytechnic University", St. Petersburg, Russian Federation

**Abstract.** The paper investigates the possibility of using waste water from Baltika Breweries as a basis of a nutrient medium for the cultivation of microalgae. The effect of various dilutions of a suspension of *Chlorella sorokiniana* microalgae grown on a nutrient medium with untreated wastewater from the brewing industry (CB) was studied in percentage use: CB: X 70:30; 50:50, 30:70 on the rate of cultivation and viability of microalgae.

**Keywords.** Microalgae, culture medium, waste water treatment, brewing industry.

Водоросли используются, в основном, для получения белка. Весьма перспективны в этом отношении и культуры одноклеточных водорослей, в частности высокопродуктивных штаммов рода *Chlorella* и *Scenedesmus*. Их биомасса после соответствующей обработки используется в качестве добавки в рационы скота, а также в пищевых целях. Одноклеточные водоросли выращивают в условиях мягкого теплого климата (Средняя Азия, Крым) в открытых бассейнах или закрытых культиваторах со специальной питательной средой. К примеру, за теплый период года (6—8 месяцев) можно получить 50—60 т биомассы хлореллы с 1 га, тогда как одна из самых высокопродуктивных трав — люцерна дает с той же площади только 15—20 т урожая.

Хлорелла содержит около 50 % белка, а люцерна — лишь 18 %. В целом в пересчете на 1 га хлорелла образует 20—30 т чистого белка, а люцерна — 2—3,5 т. Кроме того, хлорелла содержит 40 % углеводов, 7—10 % жиров, витамины А (в 20 раз больше), В<sub>2</sub>, К, РР и многие микроэлементы. Варьируя состав питательной среды, можно процессы биосинтеза в клетках хлореллы сдвинуть в сторону накопления либо белков, либо углеводов, а также активировать образование тех или иных витаминов.

Питательная среда для культивирования микроводорослей содержит ряд микро и макроэлементов, необходимых для быстрого роста одноклеточны.

Сточные воды пищевой промышленности содержат сравнительно большое количество биогенных элементов: азота, фосфора и калия, которые необходимы для культивирования биомассы микроводорослей. Поэтому сточные воды пищевой промышленности возможно использовать как основу для создания питательной среды культивирования микроводорослей [1].

Использование микроводорослей для биологической очистки стоков изучено в различных работах [2-5]. Авторы [2] исследовали извлечение ионов тяжелых металлов - меди, никеля, кадмия из питьевых вод *C. sorokiniana*, иммобилизованной на вытяжке из водорослей ламинария. Использовали растворы с концентрациями от 5 до 350 мг/л, рН 3-7. Установлено, что оптимальное время контакта биосорбента с модельным раствором составляет 180 мин. В работе [3] клетки *C. sorokiniana* иммобилизовали на спонже из люфы для извлечения ионов хрома. Эффективность извлечения ионов

хрома (III) составила 98 %, сорбционная емкость 69,9 мг/г. Также процессы сорбции трехвалентного хрома с помощью зелёных водорослей изучались в работе [4]. Сорбцию металла проводили с помощью специально приготовленных гранул диаметром несколько миллиметров, которые состоят из полимерной основы и включенным в неё порошка из *C. vulgaris* или *S. acutus*. Значительное количество приемов и методов по иммобилизации микроводорослей в разнообразных матрицах описано в статье [5]. Исследование биосорбентов из остаточной биомассы микроводорослей и биополимера хитозана описано в статье [6]. В работе [7] использованы сточные воды свиноводческих ферм для культивирования микроводорослей и одновременной очистки стоков.

Цель данной работы - изучить возможность использования микроводорослей *Chlorella sorokiniana* для биологической очистки сточных вод пивоваренного завода г Санкт-Петербурга при одновременном культивировании биомассы микроводорослей.

Процессы очистки сточных вод - культивирования микроводоросли проводили при освещении лампой дневного света (2600 люкс) и температуре  $25 \pm 1$  °С. Аэрацию суспензии осуществляли аэратором Xilong AP-003, с интенсивностью аэрации –  $2 \times 2.5$  л/мин. Конструкция биореактора и условия для культивирования микроводорослей подобраны в источниках [8].

Неочищенные сточные воды ООО «Пивоваренная компания Балтика» (таблица 1) содержат в своем составе соединения азота и фосфора, которые являются макроэлементами необходимыми для питания микроводорослей и входят в состав питательной среды для культивирования микроводорослей (таблица 2)

Микроводоросли *Chlorella sorokiniana* выращенные на питательной среде (таблица 2), смешивали с неочищенными стоками пивного завода «Балтика» в следующем процентном соотношении: СВ:Х 70:30; 50:50, 30:70, где СВ - сточная вода, Х – суспензия хлорелла в питательной среде с начальной оптической плотностью  $D=0.5$ . Объем каждой смеси составлял 1 л.

Таблица 1 – Состав сточных вод ООО «Пивоваренная компания «Балтика»

рН, 6,5<Pr Н<7,5	ХПК ПДК <5500	Нобщ ПДК <120	NH <sub>4</sub> -N	NO <sub>2</sub> -N	NO <sub>3</sub> -N	Робщ ПДК < 27	PO <sub>4</sub> -P, ПДК< 15	SO <sub>4</sub> , ПДК< 300	Ca ПДК <150
ед	мгл	мг/л	мг/л	мг/л	мг/л	мг/л	мг/л	мг/л	мг/л
6,9	5650	43.77	20.85	0.022	1.6	11.85	25.86	207.2	22.3

Таблица 2 - Состав среды для культивирования микроводорослей

№	Компонент	Концентрация, мкг/л
1	<b>ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O</b>	<b>100</b>
2	<b>CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O</b>	<b>10</b>
3	<b>CoSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O</b>	<b>100</b>
4	MnCl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	500
5	H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> ·WF	50
5	Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	100
7	FeCl <sub>3</sub> ·6H <sub>2</sub> O	4,000
8	Na <sub>2</sub> EDTA·2H <sub>2</sub> O	6,000
9	<b>KNO<sub>3</sub></b>	<b>1000</b>
10	<b>KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub></b>	<b>100 000</b>
11	<b>MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O</b>	<b>240 000</b>

Скорость культивирования микроводорослей определяли по изменению оптической плотности. Измерение оптической плотности суспензии микроводорослей проводили с помощью спектрофотометра КФК-3.

Неочищенные сточные воды ООО «Пивоваренная компания Балтика» содержат в своем составе соединения азота и фосфора, которые являются макроэлементами необходимыми для питания микроводорослей и входят в состав питательной среды для культивирования микроводорослей.

Сточные воды смешивали с питательной средой в соотношении 50:50, 30:70,70:30

Изменение оптической плотности и соответственно числа клеток микроводорослей в процессе очистки- культивирования на сточных водах пивоваренного завода не значительно, но увеличивается (рисунок 1).

Из рисунка 1 видно, что наиболее благоприятными соотношениями сточной воды к суспензии микроводорослей *Chlorella sorokiniana* в растворе питательной среды являются СВ:Х -50:50%, 30:70%, при этом на 3 сутки наблюдается рост биомассы, на 6 и 8 сутки его спад. График сопоставим со стандартной кривой роста периодической культуры микроорганизмов. Прослеживаются лаг-фаза, фазы экспоненциального роста и отмирания. Происходит непрерывное изменение физиологического состояния клеток, концентрация микроорганизмов нарастает и останавливается. Это происходит либо из-за недостатка питательной среды, либо накопления продуктов жизнедеятельности.

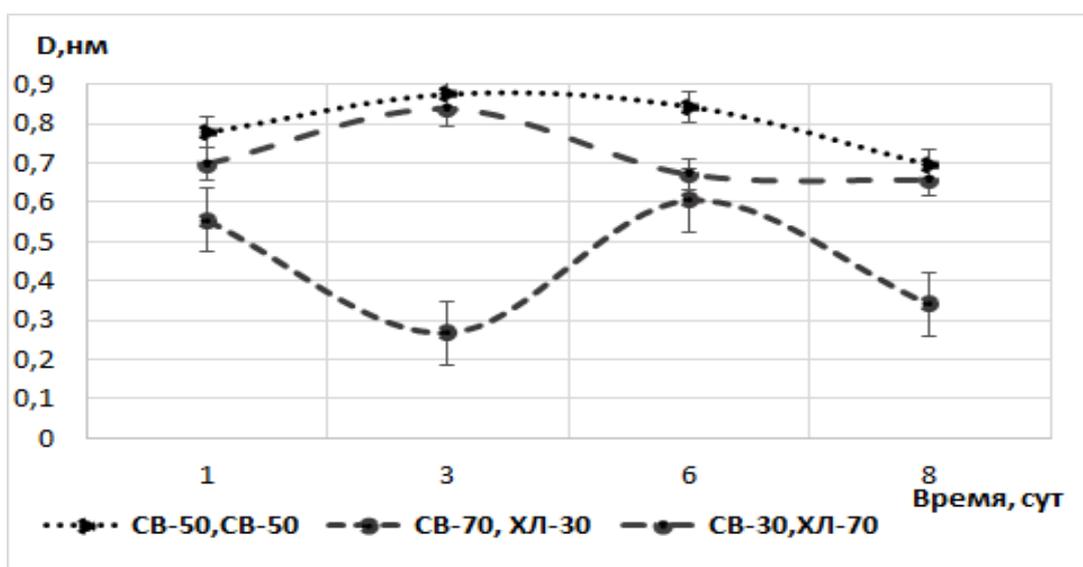


Рисунок 1 – Значения оптической плотности микроводоросли *Chlorella sorokiniana* в процессе культивирования в смеси со сточными водами ООО «Пивоваренная кампания «Балтика» (начальная оптическая плотность в исходной суспензии микроводорослей D=0,506

При отношении 70:30 очевидно пагубное влияние стоков на рост микроводорослей. Микробиологический анализ показал, что на 3 сутки происходит гибель клеток микроводорослей. Увеличение значения оптической плотности на 6 сутки обусловлено наличием осадка из отмерших клеток в суспензии, через которую проходил световой поток. Начальный зеленый цвет раствора микроводорослей с различным соотношением сточных вод на 8 сутки изменился в случае соотношения 50:50 зеленая окраска стала мутно зеленая, а в случае 70:30 раствор приобрел коричневую окраску, что подтверждает гибель клеток микроводорослей. Для раствора с соотношением 30:70 цвет раствора не изменился, он имел ярко-зеленую окраску, как и в первый день культивирования, что соответствует цвету здоровых клеток

**Выводы:** в результате проделанной работы было установлено, что культивирование микроводорослей возможно при добавлении сточных вод пивоваренной промышленности. Оптимальное соотношение сточных вод и питательной среды 30:70.

#### Список использованной литературы

1. Политаева Н.А., Смятская Ю.А., Кузнецова Т.А., Олышанская Л.Н., Валиев Р.Ш.// Культивирование и использование Микроводорослей *Chlorella* и высших водных растений ряска *Lemna* // монография 2017. - Саратов: ИЦ «Наука», 2017
2. Biosorption characteristics of unicellular green alga *Chlorella sorokiniana* immobilized in loofa sponge for removal of Cr(III) [Text] / N. Akhtar, M. Iqbal, Z. S. Iqbal et al. // Journal of Environmental Sciences. - 2008. - V. 20. - P. 231–239.
3. Ardila, L. Sorption capacity measurement of *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus acutus* to remove chromium from tannery waste water / L. Ardila, R. Godoy, L. Montenegro // IOP Conference Series: Earth and Environmental Science. - 2017, 83. - P. 1-16

4. Novel fungal pelletization-assisted technology for algae harvesting and wastewater treatment / W. Zhou, Y. Cheng, Y. Li et al. // *Applied Biochemistry and Biotechnology*. - 2012. - V. 167, №2. - P. 214-228.
5. Biomass and biofuels from microalgae: advances in engineering and biology. / N.R. Moheimani, M.P. McHenry, K. de Boer et al. - Springer International Publishing. 2015, - 373 p.
6. Щербаков П.Н. Влияние избытка органического и неорганического углерода на поглощение ортофосфата клетками *Chlorella vulgaris* // Материалы Международного молодежного научного форума «Ломоносов-2017». 2017. – С. 1-2.
7. Мамедова, Т. Т. Различные подходы к накоплению биомассы водорослей *Chlorella vulgaris* и процессам ее биокаталитической трансформации: дисс. к.х.н. / Т. Т. Мамедова. - Москва, 2015. - 176 с.1.
8. Смятская Ю.А., Политаева Н.А., Собгайда В.С. Фотобиореакторы для культивирования микроводоросли *Chlorella sorokiniana* // Вестник Технологического университета. 2018. - № 2. - С.224-227.