

УДК 542.580

АНОНДО ВЪЯНАРКО¹, ДИАНУРСАНТИ¹, ХЕЙДИ¹, РОКМИЯТИ ВИДАНИГРОЕМ СЕМАНТОЙ¹, КАЗУХИЗА ОХТАГУЧИ²

¹Индонезийский ун-т, кафедра хим. машиностроения,
16424 Депок, Индонезия

²Токийский технологический ин-т, кафедра хим. машиностроения,
2-12-1 Оокаяма, Мегуро Ку, 152 Токио, Япония
email: anondho@che.ui.edu

**ВЛИЯНИЕ ОСВЕЩЕНИЯ НА ФИКСАЦИЮ CO₂ КУЛЬТУРОЙ
CHLORELLA VULGARIS BEIJER. В ПУЗЫРЬКОВОМ
КОЛОНЧАТОМ ФОТОРЕАКТОРЕ¹**

Исследовано влияние освещенности на продукционные характеристики микроводорослей. Предпринята попытка увеличить фиксацию CO₂ и выход биомассы у *Chlorella vulgaris* Beijer. путем изменения освещенности по мере увеличения биомассы культуры в период роста клеток. Установлено, что интенсивность света, необходимая для получения максимального значения скорости переноса углерода (CTR_{max}), отлична от той, которая нужна для максимального выхода биомассы.

Ключевые слова: изменение, *Chlorella vulgaris*, пузырьковый колончатый фотобиореактор, освещение.

Введение

Для устранения избытка двуокиси углерода в атмосфере используют различные методы, в том числе физические, химические и биологические. Один из биологических методов, который может быть применен для уменьшения концентрации CO₂, основан на использовании фотосинтезирующей способности микроводорослей (Stewart et al., 2004). Микроводоросли являются фотолитотрофами, осуществляющими окислительный фотосинтез. Как и высшие растения, микроводоросли используют для фотосинтеза лучистую энергию и воду в качестве донора электронов, играя значительную роль в удалении из атмосферы парникового газа (CO₂) с помощью рибулозо-бифосфат карбоксилазы/оксигеназы (Рубиско).¹ Продукты расщепления CO₂ служат источником углерода для всех биологических материалов. Кроме того, микроводоросли способны накапливать большое количество CO₂, используя специальный механизм концентрации CO₂ (CCM) (Karlan et al., 1980).

Биомассу *Chlorella* sp. широко используют в качестве высокопродуктивного источника различных биологических веществ, таких, например, как хлорофилл, аминокислоты, β-каротин, белки и др. (Wirosaputro, 2002). Для роста *Chlorella* необходимы солнечная энергия и субстрат. Солнечная энергия

¹ Таблица, рисунки и список литературы взяты из оригинала автора.

является важным фактором роста *Chlorella*, который конвертируется в синтез АТФ для использования в процессах фотосинтеза, метаболизма, роста и клеточного деления. В качестве субстрата у *Chlorella* был зафиксирован CO_2 , который использовался в синтезе АТФ в темновой реакции для выработки соединений углерода (Ogbonna et al., 1985). К сожалению, результаты фиксации CO_2 и продукции биомассы при постоянной интенсивности освещения относительно невелики из-за феномена самозатенения, так как было показано, что потребность в возрастании световой энергии в процессе роста микроводоросли невысока (Falkowsky et al., 1980, Oquist et al., 1992). К настоящему времени *Chlorella* sp. стала наиболее изученным и хорошо описанным в литературе зеленым продуктом. Поэтому мы использовали в своем исследовании культуру *Ch. vulgaris* Beijer., выращенную на среде Бенека (Beneck)¹.

На основании изложенного выше, а также результатов наших предыдущих исследований с использованием *Anabaena cylindrica* IAM M1 и *Spirulina platensis* IAM M 135 (Hirata et al., 1996, 1998; Wijanarko, Ohtaguchi, 2003), в данной работе мы попытались увеличить фиксацию CO_2 и выход биомассы у *Ch. vulgaris* путем изменения освещенности по мере увеличения биомассы культуры в период роста клеток.

Данная работа является продолжением исследований влияния освещенности на продукционные характеристики микроводорослей.

Растущая способность клеток водорослей фиксировать CO_2 была показана при увеличении скорости переноса углерода (*Carbon Transfer Rate*, CTR) и изменении освещенности. CTR определяют как количество CO_2 , перенесенного для клеточного метаболизма внутри определенного объема среды за определенный период времени, и рассчитывают по следующей формуле:

$$CTR = Q_G \cdot P_T \cdot M_{\text{CO}_2} \cdot \frac{Y_{\text{CO}_2} - Y_{\text{CO}_2e}}{V \cdot R \cdot T},$$

где Q_G – объемная доля газа; V – объем биореактора; M_{CO_2} – молекулярный вес CO_2 , P_T – общее внешнее давление; T – внешняя температура; Y_{CO_2} и Y_{CO_2e} – концентрация CO_2 на входе и выходе газа. Было сделано предположение, что в ходе эксперимента будет установлено оптимальное значение интенсивности света для увеличения фиксации CO_2 культурой *Ch. vulgaris*, отмеченное по возрастанию величины CTR. Результаты исследования могут быть использованы как исходные при дальнейших попытках оптимизировать производство биомассы или редукцию CO_2 .

Материалы и методы

Штамм *Chlorella vulgaris* был получен из Исследовательского центра пресноводного рыбоводства Департамента моря и рыбоводства в Депоке, Индонезия. Штамм культивировали в простом пузырьковом колончатом фотобиореакторе объемом 1,0 дм³, содержащем среду Бенека (рис. 1). Опыт проводили в два этапа. На первом этапе определяли интенсивность света, необходимую для получения максимального значения CTR, которая могла быть использована на втором этапе, в ходе которого освещенность изменялась.

¹ Среда Бенека – это питательный раствор, обогащенный соединениями (MgSO_4 , KH_2PO_4 , NaNO_3 и FeCl_3), необходимыми для оптимального роста *Chlorella* sp.

Результаты, полученные при постоянном уровне освещенности, сравнивали с результатами эксперимента по изменению освещенности, чтобы подобрать интенсивность света для максимального выхода биомассы *Ch. vulgaris*.

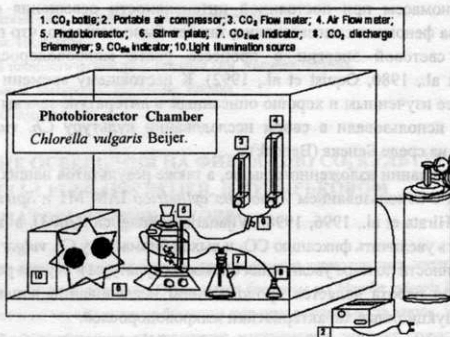


Рис. 1. Экспериментальный аппарат. 1 – CO₂ дюз; 2 – портативный компрессор; 3 – измеритель потока CO₂; 4 – измеритель потока воздуха; 5 – фотобиореактор; 6 – тарелка Стиррера; 7 – CO₂ out внешний индикатор; 8 – CO₂ чашка Эйренмейера; 9 – CO₂ in внутренний индикатор; 10 – источник освещения.

Для исследования роста культуры измеряли OD₆₈₀ клеточной суспензии. Калибровка кривой показала, что единица OD₆₈₀ соответствует концентрации сухой массы 0,72 г/дм³. Концентрацию CO₂ на входе и выходе газа (y_{CO_2} , y_{CO_2e}) измеряли с помощью газового хроматографа (GC-TCD Shimadzu GC-8A), интенсивность падающего и проходящего света – с помощью люксметра (Luxtron LX-103), pH культуры – pH-метром (Hanna Model HI 8314).

Результаты и обсуждение

На первом этапе эксперимента культуру *Ch. vulgaris* культивировали в семи вариантах концентрации инокулюма для того, чтобы найти величину интенсивности света, при которой будет получено оптимальное значение скорости переноса углерода (CTR_{max}) для каждой начальной концентрации биомассы. Данные систематизировали для сравнения результатов обоих экспериментов. Для каждого варианта культуры интенсивность света для получения CTR_{max} (I_{CTRmax, opt}) была разной (рис. 2). Данные рис. 2 использовали на втором этапе эксперимента при изменении освещенности.

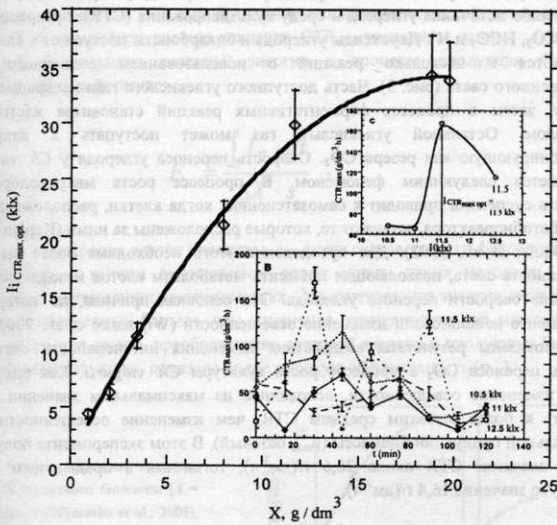


Рис. 2. Соотношение интенсивности света, максимального значения CTR ($I_{CTR_{max,opt}}$) и продукции биомассы культуры *Chlorella vulgaris* Beijer. (X); учтены усредненные данные, полученные из трех повторностей эксперимента.

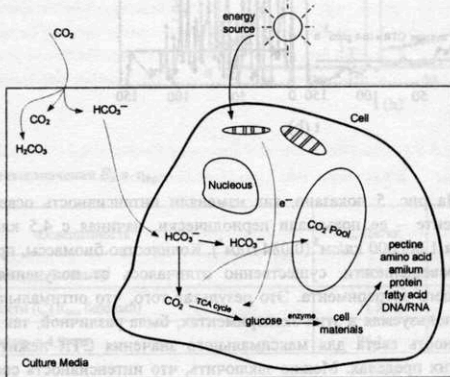


Рис. 3. Схема клеточного метаболизма.

В процессе фотосинтеза микроводорослей двуокись углерода поступает из воздуха либо источника углерода в среду культивирования (CTR), превращаясь в CO_2 , H_2CO_3 , HCO_3^- и H^+ . Двуокиси углерода и бикарбонаты поступают в клетку и вовлекаются в несколько реакций с использованием солнечного или искусственного света (рис. 3). Часть доступного углекислого газа превращается в глюкозу, затем в процессе ферментативных реакций становится клеточным материалом. Остальной углекислый газ может поступать в вакуолю, функционирующую как резерв CO_2 . Скорость переноса углерода у *Ch. vulgaris* определяется следующим феноменом. В процессе роста микроводорослей плотность суспензии приводит к самозатенению, когда клетки, расположенные у стенок фотобиореактора, затеняют те, которые расположены за ними (Karlan et al., 1980, Oquist et al., 1992). Для преодоления этого необходима более высокая интенсивность света, позволяющая повысить метаболизм клеток и поддерживать равновесие скорости переноса углерода. Это основная причина, по которой в эксперименте использовали изменение освещенности (Wijanarko et al., 2004). На рис. 4 показаны результаты воздействия изменения интенсивности света на скорость переноса CO_2 в процессе роста культуры *Ch. vulgaris*. Как видно из рис. 4, изменение освещенности, основанное на максимальном значении CTR, приводит к более высоким средним CTR, чем изменение освещенности при максимальной продукции биомассы (μ_{max} базовый). В этом эксперименте получено среднее значение CTR около $28,6 \text{ г}/(\text{дм}^3 \cdot \text{ч})$, тогда как в предыдущем было достигнуто значение $16,4 \text{ г}/(\text{дм}^3 \cdot \text{ч})$.

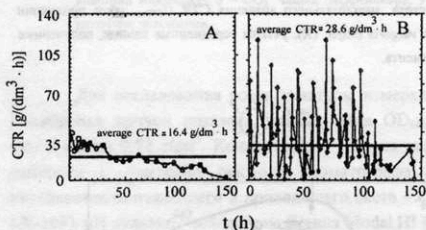


Рис. 4. Сравнение значений CTR [A = μ_{max} базовый (Wijanarko et al., 2005), B = CTR $_{\text{max}}$ базовый].

На рис. 5 показано, как изменяли интенсивность освещения в данном эксперименте – ее повышали периодически, начиная с 4,5 клк при плотности суспензии $1 \text{ 000000} \text{ кл}/\text{см}^3$ ($0,084 \text{ г}/\text{дм}^3$). Количество биомассы, произведенной при CTR $_{\text{max}}$ освещенности, существенно отличалось от полученного в результате предыдущего эксперимента. Это результат того, что оптимальная интенсивность света, используемая в этих экспериментах, была различной, так как оптимальная интенсивность света для максимального значения CTR лежит в относительно более узких пределах. Можно заключить, что интенсивность света, необходимая для получения максимального значения CTR и максимальной биомассы, разная. I_0 обозначает интенсивность света, поступающую в реактор, а I_T – прошедшую через реактор. Сравнение с результатами эксперимента при постоянной интенсивности

света (Wijanarko et al., 2005) показало, что утилизация световой энергии для продукции биомассы (E_x) при культивировании с изменяемой освещенностью более эффективна (при расчете значения CTR_{max} учитывали данные I_I и I_T , см. таблицу). Утилизацию световой энергии в процессе продукции биомассы рассчитывали по формуле:

$$E_x = \frac{\int I_T \cdot dt}{\Delta X \cdot s},$$

где X – концентрация клеток биомассы, s – длина светового пути фотобиореактора. Значение E_x в данном эксперименте лежит между двумя методами, использованными в предыдущих экспериментах. Это означает, что энергия, потребленная для культивирования, больше, чем изменение освещенности для максимального роста. Несмотря на это, преобразование световой энергии в продукцию биомассы дало лучший результат, показало более высокую эффективность (η_{bp}).

Рис. 5. Влияние изменения освещенности на продукцию биомассы [$A = \mu_{max}$ базовый (Wijanarko et al., 2005), $B = CTR_{max}$ базовый].

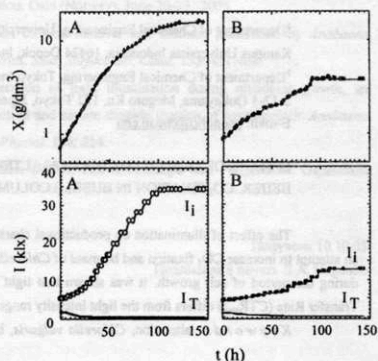


Таблица. Полученные значения E_x и η_{bp}

Освещенность	E_x , Дж/кг	η_{bp} , %
Измененное освещение (μ_{max} базовый) ¹	44.3	0.11
Изменение освещенности (CTR_{max} базовый)	71.9	0.13
Постоянная освещенность в 4,9 клк	94.1	0.35

¹ Wijanarko et al, 2005

По сравнению с предыдущим экспериментом, в представленном опыте по изменению освещения в ходе роста культуры получено значительно большее количество биомассы (Wijanarko et al., 2005). Это результат того, что оптимальная интенсивность света, используемая в этих экспериментах, была различной, так как оптимальная интенсивность света для максимального значения CTR лежит в относительно более узких пределах.

В общем можно заключить, что интенсивность света, необходимая для получения максимального значения CTR, отлична от той, которая нужна для максимального выхода биомассы.

Благодарности

Исследование поддержано грантом Hibah Bersaing XIII Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi (SK No. 437/D3/U/2004).

Anondho Wijanarko¹, Dianursanti¹, Heidi¹, Roekmijati Widaningroem Soemantojo¹, Kazuhisa Ohtaguchi²

¹Department of Chemical Engineering, University of Indonesia, Kampus Universitas Indonesia, 16424 Depok, Indonesia

²Department of Chemical Engineering, Tokyo Institute of Technology, 2-12-1 Ookayama, Meguro Ku, 152 Tokyo, Japan

E-mail: anondho@che.ui.edu

EFFECTS OF LIGHT ILLUMINATION ALTERATION ON *CHLORELLA VULGARIS* BEIJER. CO₂ FIXATION IN BUBBLE COLUMN PHOTOBIOREACTOR

The effect of illumination on production characteristics of algae has been studied. Authors made an attempt to increase CO₂ fixation and biomass of *Chlorella vulgaris* Beijer. by alteration of light illumination during the period of cell growth. It was shown that light intensity necessary for maximum Carbon dioxide Transfer Rate (CTR_{max}) differs from the light intensity range of maximum biomass production.

Keywords: alteration, *Chlorella vulgaris*, bubble-column photobioreactor, light illumination.

Bailey, J.E. & D.F. Ollis. 1986. *Biochemical Engineering Fundamentals*. McGraw HillBook Co., New York.

Falkowsky, P.G. & T.G. Owens. 1980. Light-Shade Adaptation. *Plant Physiol.* 66: 592-595.

Hirata, S., M. Taya & S. Tone. 1996. Characterization of *Chlorella* cell cultures in batch and continuous operations under a photoautotrophic condition. *J. Chem. Engineer. Jap.* 29(6): 953-959.

Hirata, S., M. Taya & S. Tone. 1998. Continuous cultures of *Spirulina platensis* under photoautotrophic conditions with change in light intensity. *J. Chem. Engineer. Jap.* 31(4): 636-639.

- Ohtaguchi, K. 2000. Soft energy path synthesis from carbon dioxide to biofuel ethanol through cyanobacterial biotechnology. *Technology* 7: 175-188.
- Ohtaguchi, K., S. Kajiwara, D. Mustaqim & N. Takahashi. 1997. Cyanobacterial bioconversion of carbon-dioxide for fuel production. *Energy Conver. Manag.* 38: 523-538.
- Ohtaguchi, K. & A. Wijanarko. 2002. Elevation of the efficiency of cyanobacterial carbon dioxide removal by monoethanolamine solution. *Technology* 8: 267-286.
- Oquist, G., J.M. Anderson, S. McCaffery & W.S. Chow. 1992. Mechanistic difference in photo inhibition of sun and shade plants. *Planta* 188: 422-431.
- Stewart, C. & M.A. Hessami. 2004. *Propositions of Sustainable Methods of Carbon Dioxide Separation and Disposal*: Proc. Intern. Conf. on Sustainability Engineer. and Sci. Auckland (New Zealand).
- Wijanarko, A., K. Asami & K. Ohtaguchi. 2004. The kinetics of growth and the CO₂ concentrating mechanism of the filamentous cyanobacterium *Anabaena cylindrica* in a bubble column. *J. Chem. Engineer. Jap.* 37(8): 1019-1025.
- Wijanarko, A. et al. 2005. *Alteration of light illumination during microbial growth, an enhancement effort of carbon dioxide fixation and biomass production by Chlorella vulgaris Buitenzorg*: Proc. of 8th Intern. conf. on carbon dioxide utilization. Oslo (Norway), June 20-23; 2005.
- Wijanarko, A. & K. Ohtaguchi. 2004. Carbon dioxide removal and biomass production by *Anabaena cylindrica* IAM M1 using reactor in series. *Stud. Surface Sci. Catal.* 153: 461-468.
- Wijanarko, A. & K. Ohtaguchi. 2003. Alteration of light illumination during microbial growth, an enhancement effort of biomass production and carbon dioxide fixation of psychrophilic *Anabaena cylindrica* IAM M1. *Comp. Biochem. Physiol.* 134: 214.
- Wirosaputro, S. 2002. *Chlorella untuk Kesehatan Global, Teknik Budidaya dan Pengolahan*. Gajahmada Univ. Press, Yogyakarta.

Получена 10.10.05

Подписала в печать Л.А. Сиренко