

УДК 582.26/27: 57.082.2(477)

П.М. ЦАРЕНКО, Е.В. БОРИСОВА

Институт ботаники им. Н.Г. Холодного НАН Украины,
ул. Терещенковская, 2, 01601 Киев, Украина
e-mail: mailto:ptsar@ukr.net

КОЛЛЕКЦИЯ КУЛЬТУР МИКРОВОДОРОСЛЕЙ IBASU-A – ПОТЕНЦИАЛЬНЫЙ РЕСУРС БИОСЫРЬЯ ДЛЯ ПРОИЗВОДСТВА БИОДИЗЕЛЯ

Рассмотрены ростовые параметры и продуктивность культур коллекции микроводорослей IBASU-A, определены перспективные штаммы-продуценты и создана отдельная коллекция как потенциальный ресурс биологического сырья для производства биодизеля.

Ключевые слова: микроводоросли, биодизель, коллекции водорослей, биомасса, липиды.

Введение

Интенсивное использование нефти и газа в XX в. вызвало острую необходимость в создании новых возобновляемых и экологически безопасных альтернативных источников энергии и топлива. Учеными во всем мире проводятся исследования по созданию биотоплива, в частности биодизеля, как наиболее востребованного и перспективного источника энергии. В качестве растительного сырья для производства биодизеля используются липиды масличных растений, бактерий, дрожжей, мицелиальных грибов и микроводорослей. Преимуществом микроводорослей как продуцентов является высокое содержание липидов, большая скорость роста, возможность направленного биосинтеза, использование для их выращивания фотобиореакторов и открытых водоемов, а также технических вод различных промышленных производств (Корховой, Блюм, 2013; Чернова и др., 2008; Chisti, 2007; Gouveia, 2011; Spolaore et al., 2006). Однако из 45 тыс. известных видов микроводорослей около 30 видов способны накапливать в клетках повышенное количество липидов (20–50 % массы сухого вещества). Это представители эвгленофитовых, гаптофитовых, эвстигматофитовых, диатомовых, зеленых (жгутиковых и коккоидных), красных и стрептофитовых водорослей. Способность их активно расти в культуральных условиях является важным элементом исследования этих таксонов (Перспективи ..., 2009; Сорочинский та ін., 2011; Borowitzka, 2013; Barbosa, Wiffels, 2013). Ранее нами рассмотрены различные аспекты использования микроводорослей коллекции IBASU-A Ин-та ботаники им. Н.Г. Холодного НАН Украины в биотехнологии (Корховий та ін., 2011; Царенко та ін., 2011, 2012а, б; Borisova, Tsarenko, 2004).

Целью данной работы было проведение скрининга коллекции IBASU-A на наличие видов-продуцентов биомассы и липидов и создание коллекции наиболее перспективных штаммов, имеющих высокую скорость роста и прироста биомассы, как потенциального ресурса биологического сырья для производства биодизеля.

© П.М. Царенко, Е.В. Борисова, 2014

ISSN 0868-8540. Альгология. 2014, 24(3)

409

Материалы и методы

Скрининг проведен на базе коллекции культур микроводорослей Института ботаники им. Н.Г. Холодного НАН Украины (акроним IBASU-A), которая включает более 500 штаммов 86 галофильных и пресноводных видов (Борисова, Царенко, 2001). Основными критериями отбора водорослей служили способность к накоплению повышенного количества липидов, высокая скорость роста, продуктивность и контаминантность культуры.

Для отбора продуктивных форм использовали экспресс-метод выращивания водорослей на жидких и агаризованных средах с последующим учетом визуально наиболее активно растущих культур (Algae ..., 2005).

Экспериментальные исследования по изучению активности роста и продуктивности 33 наиболее перспективных штаммов проводили в условиях интенсивного культивирования в течение 10 сут. Водоросли выращивали в конических колбах объемом 1000 мл (объем среды 200 мл) на люминостате при круглосуточном освещении и температуре 26–32 °С, интенсивности света 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ и постоянном барботировании среды. Исходное количество посевного материала составляло 5 млн кл./мл. Прирост биомассы оценивали ежедневно прямым подсчетом количества клеток в камере Горяева и/или определением абсолютно сухого вещества (а.б.с) методом прямого взвешивания. На основании полученных результатов рассчитывали удельную скорость роста и продуктивность (Тренкеншу, 2005).

Результаты и обсуждение

В результате проведенного скрининга заложена отдельная коллекция перспективных штаммов-продуцентов биомассы, включающая 33 штамма 18 видов родов *Acutodesmus* (E. Hegew.) P. Tsarenko (6), *Botryococcus* Kütz. (1), *Chlorella* Beijer. (6), *Chloroidium* Hadson (2), *Desmodesmus* (Chodat) An et al. (7), *Enallax* Pascher (1), *Euglena* Ehrenb. (2), *Monoraphidium* Komárk.-Legn. (2), *Parachlorella* Krienitz et al. (6) и *Haematococcus* C. Agardh emend. Flot. (2).

Экспериментальные исследования параметров роста и кинетических характеристик культур *Botryococcus braunii* Kütz (шт. 504), *Chlorella vulgaris* Beijer. (шт. 189, 190, 192), *Chloroidium saccharophilum* (W. Krüger) Darienko et al. (шт. 186, 187), *Parachlorella kessleri* (Fott et Novák.) Krienitz et al. (шт. 198, 199, 201, 444), *Acutodesmus dimorphus* (Turp.) P. Tsarenko (шт. 251, 252), *A. obliquus* (Turp.) P. Tsarenko (шт. 292, 473) и *Desmodesmus armatus* (шт. 270), *D. communis* var. *rectangularis* (G.S. West) E. Hegew. (шт. 371), *D. magnus* (Meyen) P. Tsarenko (шт. 401, 402), *D. multivariabilis* var. *turskensis* P. Tsarenko emend. E. Hegew. (шт. 398), *D. subspicatus* (R. Chodat) E. Hegew. et A. Schmidt (шт. 310, 407) показали, что большинство штаммов хорошо растут и развиваются при заданных условиях культивирования. Они характеризуются минимальными сроками адаптации, высокой скоростью роста и продуктивностью. В культурах видов *Chlorella*, *Chloroidium* и *Parachlorella* максимальное количество клеток (В) достигает 38–250 млн кл./мл, при этом удельная скорость роста (μ) и продуктивность (Р) составляют 0,55–1,4 сут⁻¹ и 9,5–72,5 млн кл./мл·сут. В культурах *Acutodesmus*, *Enallax* и *Desmodesmus* максимальное количество клеток ниже – 2684,5 млн кл./мл, а удельная скорость роста и продуктивность равны 0,35–1,2 сут⁻¹ и 6,4–29 млн кл./мл·сут соответственно. При этом прирост биомассы в культурах водорослей

рода *Chlorella*, *Chloroidium* и *Parachlorella* колеблется в пределах 0,51–1,6 г/л а.с.б. в сутки, а в культурах *Acutodesmus* и *Desmodesmus* – 0,34–1,2 и 0,32–1,2 г/л а.с.б. в сутки соответственно.

Наиболее продуктивными из исследованных водорослей являются *Acutodesmus dimorphus* шт. 251, *Desmodesmus magnus* шт. 401, *Parachlorella kessleri* шт. 444 и *Chlorella vulgaris* шт. 189, прирост биомассы которых составляет 0,9–1,6 г/л а.с.б. в сутки.

Наименее продуктивны *Monoraphidium griffithii* (Berk.) Komark.-Legn. шт. 364, *Monoraphidium* sp. шт.166, *Euglena viridis* Ehrenb. шт. 496 и *Euglena* sp. шт. 498. с приростом биомассы 0,27–0,38 г/л а.с.б. в сутки.

Упомянутые выше виды и штаммы водорослей как наиболее перспективные продуценты биомассы для производства биодизеля широко используются в разных областях народного хозяйства, пищевой и фармацевтической промышленности. Так, *Acutodesmus dimorphus* шт. 252, *A. obliquus* шт. 292, *Chlorella vulgaris* шт. 189-192, *Parachlorella kessleri* шт. 197–201 хорошо известны как продуценты белков, витаминов и других биологически активных соединений. Не менее важна роль *A. dimorphus* шт. 251, *Ch. vulgaris*, *Euglena viridis*, *Monoraphidium* (= *Ankistrodesmus*) sp. шт. 166 в очистке сточных вод разных промышленных производств и создании замкнутых циклов использования воды (Ленова и др., 1991; Цоглин и др., 1999). Рентабельность водорослей с недостаточной коммерческой ценностью можно повысить за счет комбинированного использования их в процессах очистки и доочистки сточных вод.

Выводы

В результате скрининга коллекции IBASU-A Института ботаники НАН Украины создана коллекция высокопродуктивных штаммов-продуцентов биомассы (33 штамма 18 видов) как сырьевой базы для дальнейшего производства биодизеля. Наиболее перспективными являются виды *Chlorella vulgaris* шт. 189. Перспективные для производства биодизеля штаммы *Ch. vulgaris* IBASU-A 189, 190, 192, *A. dimorphus* IBASU-A 251, 254, *A. obliquus* IBASU-A 292, *D. magnus* IBASU-A 401 и *D. multivariabilis* var. *turskensis* IBASU-A 398 с приростом биомассы 0,58–1,6 г/л а.с.б. сут, могут также использоваться для других биотехнологических производств.

Работа выполнена согласно проектам целевых комплексных программ научных исследований НАН Украины «Биотопливо» и «Биоэнергоконверсия».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Борисова О.В., Царенко П.М. Колекція культур водоростей Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного (IBASU-A) // Укр. ботан. журн. – 2001. – 58(5). – С. 627–633.
- Корховой В.И., Блюм Я.Б. Биодизель из микроводорослей: пути повышения эффективности накопления липидов методами генетической инженерии // Цитол. и генет. – 2013. – 47(6). – С. 30–42.
- Корховий В.І., Пірко Я.В., Царенко П.М., Блюм Я.Б. Генетична диференціація штамів *Botryococcus braunii* Kütz. – продуцентів ліпідів – за допомогою RAPD фінгерпринтингу // Доп. НАН України. – 2011. – (2). – С. 144–149.

- Ленова Л.И., Ступина В.В., Ставская С.С., Царенко П.М.* Избирательная устойчивость водорослей к некоторым компонентам сточных вод // Альгология. – 1991. – 1(1). – С. 69–74.
- Перспективи використання мікрководоростей у біотехнології /* За ред. О.К. Золотарьової. – К.: Альтерпрес, 2009. – 234 с.
- Сорочинський Б.В., Блюм Я.Б., Созінов О.О.* Рідкі біопалива: стан та тенденції. – К.: ДІА, 2011. – 169 с.
- Тренкеншу Р.П.* Простейшие модели роста микроводорослей. 1. Периодическая культура // Экол. моря. – 2005. – (67). – С. 89–97.
- Царенко П., Борисова О., Блюм Я.* Мікрководорості як об'єкт біоенергетики. Види колекції IBASU-A – перспективні продуценти біомаси як джерела сировини для біопалива // Вісн. НАН України. – 2011. – (5). – С. 49–54.
- Царенко П., Борисова О., Блюм Я.* Мікрководорості колекції IBASU-A – ресурс біомаси для отримання біодизеля // Доп. НАН України. – 2012а. – (11). – С. 172–178.
- Царенко П.М., Борисова Е.В., Конищук М.А. и др.* Сценедесмусовые водоросли – перспективный сырьевой ресурс для биодизеля // Тез. докл. Междунар. конф. «Актуальные вопросы современной альгологии» (Киев, 22–25 мая 2012 г.). – Киев, 2012б. – С. 321–322.
- Цоглин Л.Н., Пульц О., Шторандт Р., Акьев А.* Выбор продуктивных форм микроводорослей для массового культивирования // Альгология. – 1999. – 9(3). – С. 73–81.
- Чернова Н.И., Киселева С.В., Коробкова Т.П., Зайцев С.И.* Микроводоросли в качестве сырья для получения биотоплива // Альтернат. энергет. и экол. – 2008. – 65(9). – С. 68–74.
- Algae culturing techniques /* Ed. R.A. Andersen. – London: Elsevier Acad. Press, 2005. – 578 p.
- Barbosa M.J., Wiffels R.H.* Biofuels from microalgae // Handbook of microalgae culture. 2nd ed. – Wiley; Blackwell: West Sus., 2013. – P. 578–586.
- Borisova E.V., Tsarenko P.M.* Microalgae Culture Collection of Ukraine (IBASU-A): traditions and modern directions // Nova Hedw. – 2004. – 79(1/2). – P. 127–134.
- Borowitzka M.A.* Techno-economic modeling biofuels from microalagae // Algae for biofuel and energy. – Dortrecht; London: Springer, 2013. – P. 255–264.
- Chisti Y.* Biodiesel from microalgae // Biotechnol. Adv. – 2007. – 25. – P. 294–306.
- Frac M., Jezierska-Tys S., Tys J.* Microalgae for biofuels production and environmental application: a review // Afr. J. Biotechnol. – 2010. – 9(54). – P. 9227–9236.
- Gouveia L.* Microalgae as a feedstock for biofuels. – Heidelberg, etc: Springer, 2011. – 69 p.
- Spolaore P., Joannis-Cassan C., Duran E., Isambert A.* Commercial applications of microalgae // J. Biosci. Bioeng. – 2006. – 101(2). – P. 87–96.

Подписал в печать С.П. Вассер

P.M. Tsarenko, E.V. Borisova

N.G. Kholodny Institute of Botany, NAS of Ukraine,
2, Tereshchenkovskaya St., 01601 Kiev, Ukraine
e-mail: mailto:ptsar@ukr.net

MICROALGAL CULTURE COLLECTION IBASU-A – A POTENTIAL RESOURCE OF FEEDSTOCK FOR BIODIESEL PRODUCTION

Growth characteristics and productivity of cultures of the Microalgal Culture Collection IBASU-A have been analysed. Promising strains-producers have been determined. Special culture collection as potential resource of feedstock for biodiesel has been created.

Keywords: microalgae, biodiesel, culture collection, biomass, lipids.