

плекса тяжелых металлов 10 раз.

При первичной и глубокой очистке этого стока на сорбентах и нетканых материалах было показано, что при флотации и доочистке на фильтре с АГ-3 концентрация нефтепродуктов снижается до норм ПДК, а органолептические показатели (цветность, запах) также нормализуются до нормативов ПДК [3].

Была разработана и апробирована в эксперименте принципиальная линия локальной очистки ливнесточных вод АЗС с применением гидроциклона, флотатора с последующей глубокой очисткой на нетканых материалах, минеральных сорбентах и активированных углях. В состав линии предложены аппараты и методы: сборная емкость ливнестока, гидроциклон, барботажный флотатор, сорбционное фильтрование на напорных фильтрах, сборники флотоконцентрата и образующегося осадка.

#### **Литература**

1. Арнс В.Ж., Гридин О.М., Яншин А.Л. Нефтяные загрязнения: как решить проблему // Экология и промышленность России. – 1999. - №9. – С. 33-36.
2. Веригина Е.Л., Миташова Н.И. Процессы и аппараты инженерной защиты компонентов окружающей среды. Гидросфера, 143 стр., Москва, 2012.
3. 98113594/25. Способ очистки сточных вод (сорбционная очистка). Леонов С.Б., Богданов А.В., Миронов А.П., Иванова М.А., опубликован 10.09.99, бюл. № 25.

#### **Тестовая установка для определения параметров суперпозиционного режима освещения фототрофных микроорганизмов**

к.т.н. доц. Зубов Д.В., в.н.с. Макеев П.П., к.т.н. доц. Мальцевская Н.В.

*Университет машиностроения*  
8(499)267-19-91, zubov@msuie.ru

*Аннотация.* Разработана и испытана лабораторная установка для подбора оптимального сочетания длительностей световых и темновых периодов при исследованиях суперпозиционного (двухчастотного прерывистого) режима освещения на рост фототрофных микроорганизмов.

*Ключевые слова:* микроводоросли, фототрофы, прерывистое освещение, энергосбережение, лабораторная установка

На протяжении нескольких веков человечество увеличивает темпы роста использования углеродсодержащих энергоносителей. Несмотря на то, что в последние десятилетия было открыто множество источников энергии, основная часть энергии вырабатывается путём сжигания угля, нефти, природного газа и продуктов их переработки, что всегда сопровождается выделением углекислого газа. Ввиду увеличивающихся масштабов выбросов углекислого газа, проблема переработки CO<sub>2</sub> привлекает все больше внимания.

Было предложено большое количество методов абсорбции и последующей утилизации углекислого газа из атмосферы, часть проектов успешно реализована. Но главная проблема во всех предложенных на данный момент вариантах заключается в высокой стоимости секвестрации (абсорбции углекислого газа). Захват, транспортировка и хранение CO<sub>2</sub> оказываются чрезмерно затратными и приводят к нерентабельности данных проектов. Привлекательным выглядит метод биологической секвестрации CO<sub>2</sub> с помощью фотосинтеза – применение повышенных концентраций углекислого газа позволяет повысить урожайность сельскохозяйственных культур. Тем не менее, использование углекислого газа в традиционных технологиях выращивания сельскохозяйственных культур малоэффективно вследствие того, что большая часть CO<sub>2</sub> просто улетучивается. Применение же герметичных теплиц со-

пряжено со значительными капитальными затратами.

Более эффективным является культивирование фототрофных микроорганизмов (водорослей) в фотобиореакторах, что позволяет резко повысить концентрацию зелёной массы, тем самым повысив производительность и снизив габариты установок.

Спектр применения светозависимых микроорганизмов, утилизирующих диоксид углерода, очень широк. Полученные продукты используются, в пищевой, медицинской, химической промышленности и др., в замкнутых системах жизнеобеспечения для регенерации кислорода [7–11, 14]. В сфере защиты окружающей среды фототрофные микроорганизмы могут быть применены для сокращения содержания парниковых газов ( $\text{CO}_2$ ) в атмосфере и очистки сточных вод [2, 6, 14]. Всё чаще оказываются в центре внимания эти микроорганизмы с точки зрения получения биотоплива как альтернативный вариант ископаемым видам топлива в связи с ужесточением экологических норм, ростом цен на нефть и сокращением природных ресурсов. Получаемые из биомассы энергоносители (спирты, компоненты моторных топлив – от дизельного до авиационного) выгодно отличаются отсутствием вредных (как для живых организмов, так и для механизмов) примесей.

Однако культивирование светозависимых микроорганизмов сопряжено с высокими энергетическими затратами на освещение. Фотобиореакторы представляют собой технические устройства, позволяющие культивировать фототрофные организмы. Они классифицируются в зависимости от их геометрических размеров, формы: панельные, трубчатые с различным расположением: горизонтальные, вертикальные, наклонные и др. [13].

Все необходимые элементы питания, за исключением двуокиси углерода, могут быть внесены в биореактор (ФБР) в любом востребованной концентрации без изменения любых других физических характеристик системы, таких как температура или давление.

Одним из возможных вариантов снижения затрат электроэнергии при культивировании светозависимых микроорганизмов, помимо использования энергоэффективных источников света – светодиодов [1, 12], является применение импульсного (прерывистого) света. Хотя работы по изучению действия импульсного света на рост и развитие светозависимых организмов проводились многими исследователями [11], результаты их часто носят противоречивый характер и требуют дополнительных исследований.

Из исследований [11] можно сделать вывод, что постоянное освещение (как и недостаток освещения) угнетает рост фототрофов, снижая продуктивность, и поэтому является нежелательным. Как показано в [11], процесс фотосинтеза состоит из двух стадий – световой (когда культура фототрофа поглощает свет) и темновой, когда культуре фототрофа свет не нужен и даже нежелателен. Длительность темновой фазы превышает длительность световой фазы, что позволяет теоретически снизить расходы на освещение в несколько раз, но практическая реализация этого способа до последнего времени была нецелесообразна: характерная длительность световой фазы составляет 0.1...1 с и не существовало экономичных источников света, позволяющих выдержать оптимальный импульсный световой режим. Проведенные ранее исследования в качестве источников импульсов света использовали лазеры и стробоскопы, в настоящее время появилась возможность использовать светодиодные источники света, которые стали достаточно мощными, хорошими динамическими характеристиками и доступными по стоимости.

Нами предложено при исследованиях влияния импульсного света на энергосбережение применять суперпозиционное освещение [5]. В суперпозиционном режиме «темновые» периоды низкочастотного цикла замещаются на импульсный режим более высокой частоты, т.е. реализуется более сложный временной закон освещения, нежели простое чередование одинаковых импульсов. Для осуществления такого вида освещения необходимо создать установку с возможностью регулирования параметров микроимпульсного освещения.

Важно отметить перспективность данного направления энергосбережения. Не существует универсальных длительностей светотемновых периодов для всех видов и штаммов

фотосинтезирующих культур. Для каждой культуры существует свой оптимальный режим микроимпульсного освещения, и этот режим требуется подбирать для каждой культуры специально, причем для получения надёжных результатов длительность культивирования фототрофного организма может длиться более 3 – 5 суток.

Для подбора оптимальных длительностей светотемновых периодов требуется проводить большое количество экспериментов, так как число варьируемых факторов – как минимум 4 ( $T_1$ ,  $T_2$ ,  $T_3$ , и  $T_4$ ). Чтобы иметь достаточно широкий диапазон по каждому фактору, необходимо варьировать фактор как минимум на 4 уровнях. С учётом параллельных опытов, контрольных экспериментов число всех возможных вариантов достигает 256. Поэтому целесообразно использование аддитивно-решетчатого (или мультипликативно-решетчатого) математического описания и ортогональных матриц планирования эксперимента на такой установке. Удобной, в частности, является матрица ортогонального латинского квадрата  $4 \times 4$  с 16 вариантами условий проведения опыта [4].

Таблица 1

**Пример матрицы планирования эксперимента для 4 факторов на 4 уровнях**

№ п/п	$S_1$	$S_2$	$S_3$	$S_4$
1	1	1	1	1
2	3	1	3	2
3	4	1	4	4
4	2	1	2	3
5	1	3	3	4
6	3	3	1	3
7	4	3	2	1
8	2	3	4	2
9	1	4	4	3
10	3	4	2	4
11	4	4	1	2
12	2	4	3	1
13	1	2	2	2
14	3	2	4	1
15	4	2	3	3
16	2	2	1	4

В таблице 1  $S_1$ ,  $S_2$ ,  $S_3$ ,  $S_4$  – значение уровней для каждого фактора, а цифры соответствуют различным уровням факторов. Причем цифровое значение уровня не связано с количественным значением фактора.

Важно отметить, что для получения объективных результатов, даже с использованием матрицы планирования эксперимента, требуется не менее двух повторностей, а также контрольный вариант числом две и более повторностей, то есть всего экспериментальных вариантов должно быть не менее 34 одновременно.

Следовательно, требуется создать тестовую установку с количеством гнезд для колб (культиваторов), соответствующим минимальному числу необходимого количества вариантов с повторностями.

Для увеличения чувствительности тестовых экспериментов важно, чтобы в каждом отдельном опыте концентрация биомассы было возможно более высокой. Поскольку фототрофные микроводоросли являются автотрофами, для которых основным углеродным субстратом является углекислый газ, в процессе эксперимента целесообразно создать повышенную его концентрацию. Возможны два способа решения этого вопроса.

Первый способ – ферментацию проводить в закрытых колбах, не сообщаемыми с

атмосферой, т.е. закрытыми плотными пробками. Эти колбы перед началом эксперимента наполняют газовой смесью с необходимой концентрацией углекислого газа. В ходе эксперимента целесообразно периодически перезаполнять колбы в связи с поглощением водорослями углекислого газа и выделением кислорода.

Второй способ – вся экспериментальная установка помещается в закрытый чехол или короб, в котором поддерживается необходимая концентрация  $\text{CO}_2$  путем подачи газа из баллона.

Таким образом, создание тестовой установки является необходимым шагом для проверки и подбора оптимальных светотемновых периодов как одного из вариантов снижения энергетических затрат на производство ценной биомассы фототрофных микроорганизмов (а также в перспективе и высших растений, например, выращиваемых в парниковых хозяйствах).

В соответствии с вышеперечисленными требованиями была разработана, изготовлена и введена в эксплуатацию тестовая установка для определения параметров суперпозиционного режима освещения фототрофных микроорганизмов [5].

На установке проведены исследования по проверке возможности использования (суперпозиционного) двухчастотного микроимпульсного освещения [5]. В этих экспериментах затраты электроэнергии в каждом из вариантов опытов (в каждой строчке) оценивались как доля к постоянному режиму освещения, а накопление биомассы – в опыте с постоянным освещением. Результаты показывают, что некоторые режимы суперпозиционного импульсного освещения (при длительностях  $T_1 = 0,03$ ,  $T_2 = 2,0$ ,  $T_3 = 1$  с,  $T_4 = 3$  с) позволяют получить определенное снижение удельных энергозатрат.

Это показало перспективность двухчастотного (суперпозиционного) режима освещения и целесообразность его проверки при других наборах соотношений длительностей световых импульсов и интервалов между ними, а также на других штаммах светозависимых микроорганизмов.

### Материалы и методы

Опыты по культивированию проводили на зелёных водорослях и *Chlorella* sp. (класс требуксиофициевые водоросли, порядок хлорелловые) [3].

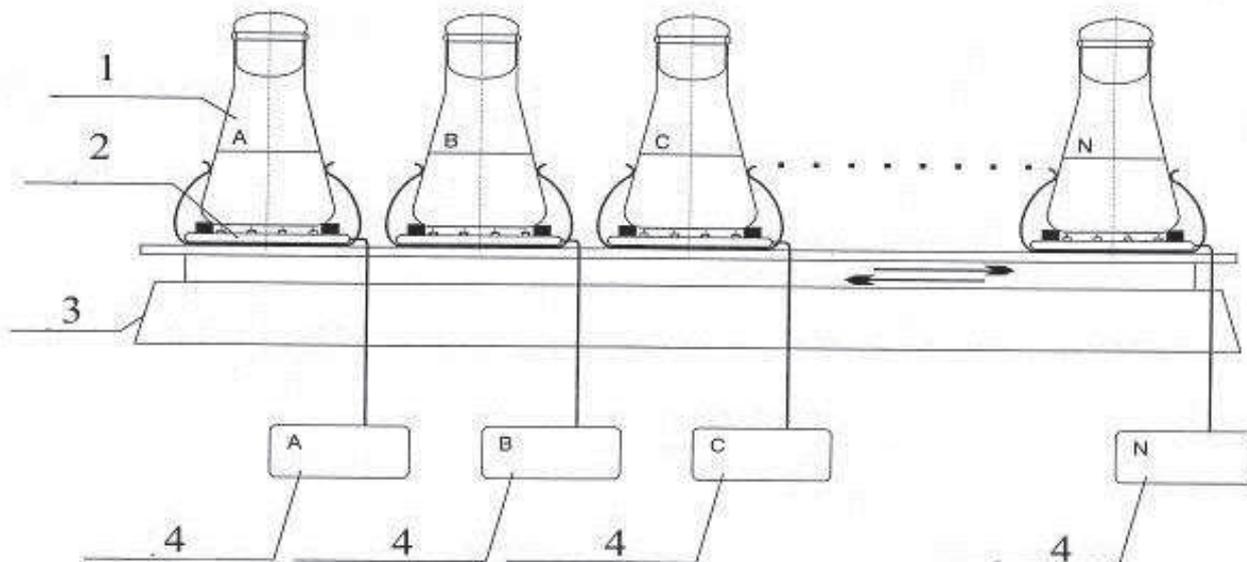
*Chlorella* sp.

Отдел Зелёные водоросли (Chlorophyta). При проведении экспериментов вели культивирование *Chlorella* sp. Температура культивирования: 28 – 30 °С. Для культивирования водорослей на твёрдой среде в качестве желеобразующего вещества применяли агар (20 г/л). Культивирование вели на среде Тамия [14].

*Установка для культивирования микроорганизмов в колбах/ на чашках Петри с регулируемым импульсным/микроимпульсным освещением*

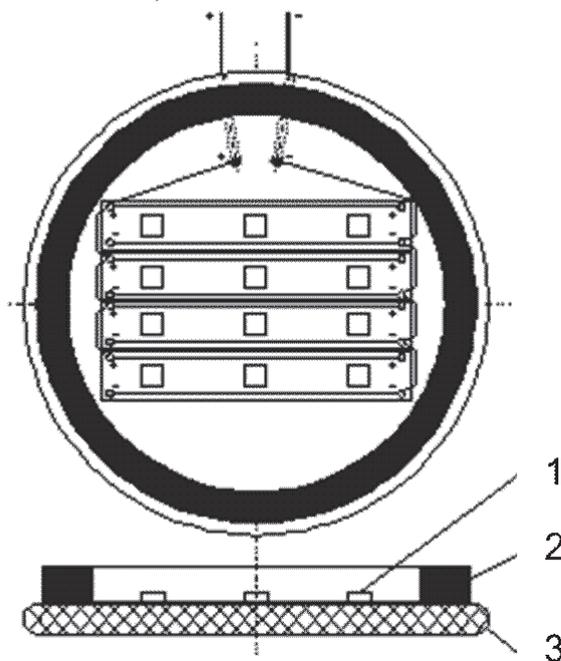
Установка, схема которой изображена на рисунке 1, представляет собой культиваторы в виде ряда сосудов (колбы Эрленмейера, объёмом 250 мл) с одинаковой интенсивностью перемешивания путём возвратно-поступательного движения в горизонтальной плоскости и источником освещения, выполненным в виде набора светоизлучающих диодов, расположенных непосредственно под прозрачными днищами сосудов на расстоянии 1 мм и соединённых с источником питания в виде генератора импульсов с регулируемой частотой и длительностью светового импульса. Установка выполнена на основе шейкера New Brunswick Innova 2300, мощность 150 Вт. Гнёзда колб разделены между собой светонепроницаемыми перегородками для предотвращения переосвещения соседними осветительными устройствами. Вся установка располагается в термостатированном помещении.

Предусмотрена также возможность использования чашек Петри для культивирования микроорганизмов в твёрдой питательной среде на данной установке.



**Рисунок 1. Установка для культивирования микроводорослей в жидкой среде с переменным периодическим освещением. 1 – культиватор; 2 – источник освещения – светоизлучающие диоды; 3 – шейкер; 4 – источник электропитания с генератором импульсов**

В качестве осветительных устройств были применены светодиодные ленты типа SMD 3528. Сам по себе источник света представлял собой круглую платформу, соответствующую диаметру дна колбы и содержал по четыре параллельно расположенных светодиодных ленты, каждая из которых содержала по 3 светодиода. В целях недопущения соприкосновения дна колбы и светодиодов (и возможного механического повреждения источников света или колбы) по периметру платформы было установлено резиновое кольцо, обеспечивающее расстояние между дном колбы и светодиодами в пределах 5 мм. Схема осветительного устройства представлена на рисунке 2. Освещённость от каждой платформы составила около 10 клк, потребляемая мощность – 0,96 Вт.



**Рисунок 2. Схема осветительного устройства: 1 – светодиод; 2 – резиновое кольцо; 3 – платформа-основание**

В установке для культивирования фототрофов предусмотрено пять световых режимов для культивирования, где один режим – контрольный (постоянное освещение), а остальные – экспериментальные – микроимпульсные режимы (с различными длительностями световых импульсов и интервалов между ними). Для каждого режима освещения используется восемь гнезд для колб-культиваторов. Для обеспечения микроимпульсных режимов освещения применены генераторы прямоугольных импульсов с различной частотой и регулируемой скважностью.

Освещённость измеряли с помощью люксметра «ТКА – ПКМ» (производство НТП-ТКМ, Санкт-Петербург) (Комплект 31) с диапазоном измерений от 10 до 200000 лк.

В работе применяли светодиоды белого цвета, излучающие белый свет благодаря свечению люминофора. Для изучения светодинамических характеристик СД использовались аналоговый (С1-68) и цифровые осциллографы (аналогово-цифровой преобразователь ЛА-50USB, осциллограф двухканальный запоминающий АСК-3002).

В установке используется компьютер (для генерации импульсов и для контроля точности генерации сигнала), вывод управляющего сигнала осуществляется с помощью блока дискретного ввода-вывода 6501 NI, который через твердотельные реле подаёт питание от батареи блоков питания 12VDC на светодиодные источники света.

Поскольку световые импульсы могут быть очень короткими, то начинают сказываться различные эффекты, нарушающие режим освещения. Для проверки реально реализуемой последовательности импульсов и соответствующей подстройки управляющей программы использован цифровой осциллографом, при помощи которого можно следить за точностью обеспечения режима каждого канала освещения с разрешением до наносекунд. Как показал эксперимент, установка обеспечивает импульсы 10 мс и длиннее с точностью до 2 мс.

Аналогово-цифровой преобразователь ЛА-50USB (производитель ЗАО «Руднев-Шиляев», РФ) – многоканальный аналогово-цифровой преобразователь, предназначенный для работы в качестве внешнего устройства совместно с ПК для преобразований непрерывных (аналоговых) входных сигналов в цифровую форму, которая удобна для дальнейшей обработки при помощи ПК.

Показания выводились на экран ПК с помощью программного обеспечения ADCLab.

Микроскопирование культур осуществляли с помощью светового микроскопа Olympus BX41 (объектив x100) с встроенной цифровой камерой Olympus C-7070.

Определение количества биомассы проводили нефелометрически фотокolorиметрированием на приборе КФК-2 (категория 4.2, исполнение УХЛ, производитель Загорский оптико-механический завод, РФ) длина волны светофильтра 760 нм, толщина кюветы (оптический путь) – 5 мм. Предварительно были построены калибровочные зависимости оптической плотности от концентрации биомассы.

#### **Описание эксперимента и выводы**

На вышеописанной установке были проведены уточняющие эксперименты по определению параметров суперпозиционного режима. В предыдущей работе были получены усовершенствованные режимы освещения результаты при условии использования суперпозиционного освещения с длительностями световых импульсов в быстрой фазе – 0,01... 0,03 с и медленной – 1 с, и длительностями темновых периодов в быстрой – 1 с и медленной фазе – 3 с. При этом направленность факторов свидетельствует о необходимости снижения длительностей интервалов между световыми импульсами.

Условия эксперимента (длительности светотемновых периодов) и результаты приведены в таблице 2 (длительность световых импульсов  $T_1$  в быстрой фазе 0,01 с при длительности темнового периода  $T_2 = 0,01$  или 0,04 с, длительность светового импульса медленной фазы  $T_3 = 1$  с при длительностях темновых периодов  $T_4 = 9; 4; 3; 2$  с) и на рисунке 3.

Длительность культивирования во время проведения эксперимента составляла 5 суток. Освещённость – 5 клк.

Начальная концентрация (оптическая плотность) биомассы  $D_0 = 0,2$

По окончании эксперимента биомассу смывали и определяли её оптическую плотность фотометрически.

Длительность микроимпульса света (при высокочастотном освещении)  $T_1 = 0,01$  с при длительностях темного периода  $T_2 = 0,01$  с;  $0,04$  с. Длительность импульса низкочастотного режима освещения  $T_3 = 1$  с; при этом проверяли длительности темного интервала низкочастотного режима освещения  $T_4 = 9$  с,  $4$  с,  $3$  с,  $2$  с.

Таблица 2

### Условия проведения эксперимента по исследованию режима суперпозиционного освещения

№	Быстрая фаза (высокочастотный импульс)		Медленная фаза (низкочастотный импульс)		Затраты ЭЭ, относительно контроля (постоянного света), %
	$T_1$ , с Импульс света	$T_2$ , с Темновой интервал	$T_3$ , с Импульс света	$T_4$ , с Темновой интервал	
1.	0,01	0,01	1	9	5,0
2.	0,01	0,04	1	9	2,0
3.	0,01	0,01	1	4	10,0
4.	0,01	0,04	1	4	4,0
5.	0,01	0,01	1	3	12,5
6.	0,01	0,04	1	3	5,0
7.	0,01	0,01	1	2	15,0
8.	0,01	0,04	1	2	6,0

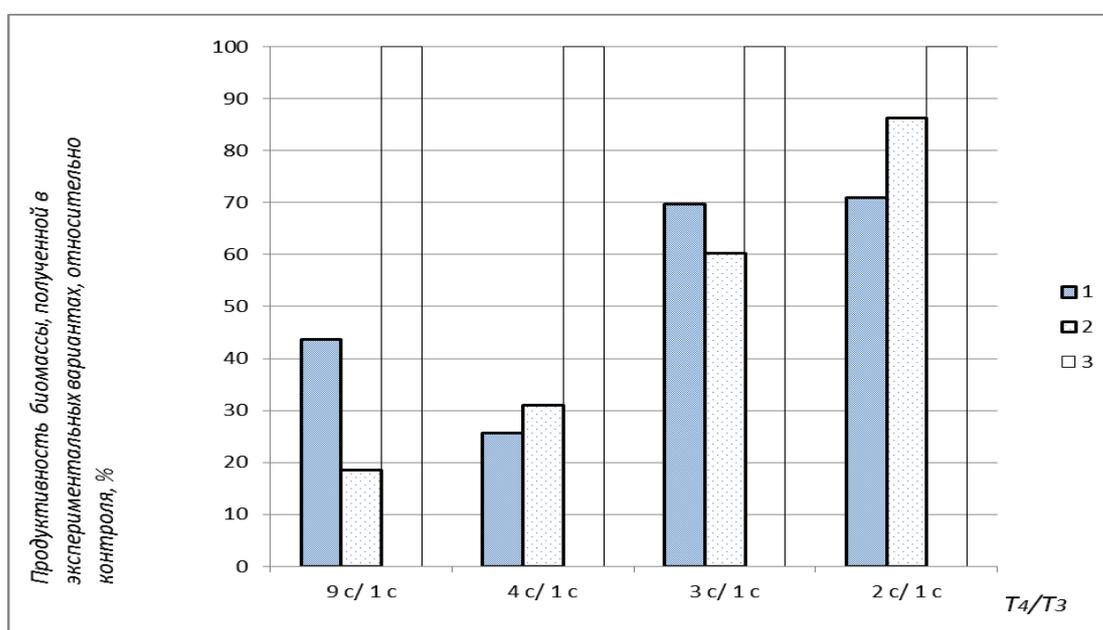


Рисунок 3. Результаты эксперимента по применению суперпозиционного освещения:

1 – микроимпульсное освещение  $T_2 = 0,01$  с,  $T_1 = 0,01$ ;

2 – микроимпульсное освещение  $T_2 = 0,04$  с,  $T_1 = 0,01$ ; 3 – контроль (постоянный свет)

Для достоверности результатов каждая экспериментальная точка имела три повторности. Результаты, приведённые в виде диаграмм на рисунке 2, являются усреднёнными из

трёх повторностей. Определение биомассы проводили фотометрически.

Результаты (по соотношению длительностей периодов низкочастотного режима) сведены на одну диаграмму, представленную на рисунке 2. На диаграмме даны приросты биомассы относительно контроля.

Во всех экспериментах максимальное количество биомассы получали с применением постоянного освещения. В экспериментах при  $T_4/T_3 = 3/1$ ;  $2/1$  были получены высокие приросты биомассы относительно контроля. Минимальные отличия экспериментальных данных от контрольного варианта были получены при длительности импульса света медленной фазы  $T_3 = 1$  с и длительности темнового периода  $T_4 = 2$  с с длительностью высокочастотного импульса  $T_1 = 0,01$  и  $T_1 = 0,04$  с. Такой режим экономичнее постоянного освещения на 50 %.

В данном контексте имеется в виду экономия электроэнергии, используемой только на освещение. Иные возможные затраты на культивирование здесь не учитываются, т.к. для полного расчёта всех затрат требуется большее количество заданных параметров, таких как вид биореактора для культивирования, назначение и вид готового продукта, географическое местоположение предполагаемого производства и пр.

***Работа выполнена в рамках выполнения государственного контракта № 14.515.11.0054 по теме: «Разработка научно-технических основ технологии энергоэффективной конверсии парниковых газов с помощью фототрофных микроорганизмов в полезные товарные продукты».***

#### Литература

1. Айзенберг Ю.Б. Справочная книга по светотехнике /Под ред. Ю.Б. Айзенберга 3-е изд. Перераб. и доп. М.: Знак, 2006. - 972 с.
2. Богданов Н.И. Суспензия хлореллы в рационе сельскохозяйственных животных / Н.И. Богданов. - Пенза, 2-е изд. перераб. и доп., 2007. - 48 с.
3. Белякова Г.А. Ботаника: в 4 т. Т.2. Водоросли и грибы: учебник для студ. высш. учеб. заведений /Г.А. Белякова, Ю.Т. Дьяков, К.Л. Тарасов. - М.: Издательский центр "Академия", 2006. - 320 с.
4. Бирюков В.В. Основы промышленной биотехнологии. - М.: КолосС, 2004. - 296 с.
5. Бирюков В.В., Макеев П.П., Мальцевская Н.В. Использование алгоритма суперпозиционного микроимпульсного освещения при культивировании фототрофных микроорганизмов//Известия МГТУ «МАМИ», №1, 2013
6. Варфоломеев С.Д., Вассерман Л.А. Микроводоросли – источник биотоплива, пищевых, кормовых и лекарственных продуктов// Биотехнология, №2, 2011
7. Владимирова М.Г., Семененко В.Е. Интенсивная культура одноклеточных водорослей. Издательство Академии наук СССР, 1962 г.
8. Глушук Л.П. Аппаратурно-технологическое оформление процесса культивирования цианобактерий *Spirulina*. Автореферат диссертации, Москва, 2000
9. Мельников С.С., Мананкина Е.Е. Использование хлореллы в кормлении сельскохозяйственных животных/ Наука и инновации. №8 (90), 2010.
10. Ничипорович А.А., Семененко В.Е., Владимирова. Интенсификация фотосинтетической продуктивности культуры одноклеточных водорослей// Известия академии наук СССР, серия биологическая, 163-172, 1962.
11. Семененко В.Е. Изучение механизма процессов переходных состояний фотосинтеза. Автореферат диссертации. Москва, 1962 г.
12. Шуберт Ф. Светодиоды Пер. с англ. Под ред. А.Э. Юновича. - 2-е изд. - М.: ФИХМАТЛИТ, 2008. - 496 с.
13. Borowitzka M. A. Commercial production of microalgae: ponds, tanks, tubes and fermenters //Journal of Biotechnology 70, 313-321. 1999.
14. Сальникова М.Я. Хлорелла – новый вид корма. Монография. - М.: Колос, 1977. - 96 с.