

## КОСМИЧЕСКАЯ БИОЛОГИЯ

1967 №4

УДК 612.22:[629.195.08:582.26.082

### НЕПРЕРЫВНАЯ КУЛЬТУРА МИКРОВОДОРОСЛЕЙ В КАЧЕСТВЕ ЗВЕНА ЗАМКНУТОЙ ЭКОЛОГИЧЕСКОЙ СИСТЕМЫ

Л. В. Киренский, И. А. Терсков, И. И. Гительзон,  
Г. М. Лисовский, Б. Г. Ковров, Ю. Н. Окладников

Одним из вариантов замкнутой экологической системы для жизнеобеспечения в длительных космических полетах может являться система, включающая в себя в качестве автотрофного звена культуру микроводорослей. Наиболее важной с практической точки зрения задачей является использование в качестве газообменника микроводорослевого звена, регенерирующего атмосферу кабины космического корабля. Основным требованием, предъявляемым к микроводорослевому звену замкнутой системы, следует признать возможность длительного автоматического поддержания в нем процесса фотосинтеза с постоянным продуцированием микроводорослей, достаточным для удовлетворения потребностей человека.

Единственно пригодным для использования в замкнутой системе способом культивирования микроводорослей можно признать непрерывное культивирование, для которого

$$\frac{dx}{dt} = \mu x - Dx$$

$$\frac{ds}{dt} = DS_0 - \mu \alpha x - DS$$

$$\frac{dp}{dt} = \mu \beta x - DP$$

$$\mu = \mu_{\max} = \frac{SK_p}{\left(K_s + S + \frac{S^2}{K_m}\right)(K_p + P)}, \quad (1)$$

где  $X$  — концентрация биомассы клеток в суспензии,  $S$  — концентрация элемента среды в окружающей клетки (фоновой) среде,  $P$  — концентрация метаболитов в суспензии,  $D$  — величина разведения,  $\mu$  — скорость роста клеток,  $S_0$  — концентрация элемента среды в подаваемой (питающей) среде,  $\beta$  — количество метаболитов, выделяющихся в среду при синтезе единицы биомассы клеток,  $\alpha$  — количество элемента среды, расходуемое при синтезе единицы биомассы клеток,  $K_s$  — константа уравнения Михаэлиса—Ментен,  $K_m$  — константа уравнения Бриггса—Холдена,  $K_p$  — константа уравнения Иерусалимского (Н. Д. Иерусалимский, Н. М. Неронова; Н. Д. Иерусалимский, 1964).

Необходимость неограниченно длительного процесса требует условия:

$$\frac{dx}{dt} = 0. \quad (2)$$

Тогда из первого уравнения системы (1) следует, что  $D = \mu$ , т. е. величина разведения равна скорости роста культуры.

Условию (2) удовлетворяют оба используемые в практике способа непрерывного культивирования — хемостатный и турбидостатный (плотностатный) (Monod, Nowick и Scilard). Различия между этими способами заключается в методическом приеме, посредством которого достигается равенство  $D = \mu$ .

При хемостатном способе культивирования величина разведения задается постоянной и по ряду причин заведомо меньшей, чем оптимальная, при которой может быть достигнута максимальная продуктивность (Aiba с соавторами). При плотностатном способе скорость роста и величина разведения находятся в обратной положительной связи друг с другом так, что концентрация клеток в культуре сохраняется постоянной независимо от колебаний скорости роста микроорганизмов, а продуктивность культуры всегда максимальна для имеющегося сочетания условий культивирования. Эти причины обусловили выбор плотностатного способа непрерывного культивирования для микроводородослевого звена экологической системы.

Система уравнений (1) используется для описания непрерывного культивирования гетеротрофных микроорганизмов (Н. В. Степанова с соавторами; Н. Д. Иерусалимский, 1966), где рост культуры, как правило, лимитируется или ингибируется растворенными в среде элементами питания.

При культивировании одноклеточных аутоотрофных организмов наиболее целесообразны светолимитированные культуры, которые более полно используют самый «дорогостоящий» элемент питания — световую энергию. При этом рост культуры не ограничивается и не ингибируется остальными элементами среды.

Экспериментальные исследования показали также, что при нестерильном культивировании микроводорослей продукты обмена не оказывают заметного ингибирующего действия на рост культуры до весьма высоких значений концентрации клеток (в наших опытах до 100 г/л и более по сухому весу клеток хлореллы). В связи с этим четвертое уравнение системы (1) можно исключить из рассмотрения.

Многие авторы отмечают саморегулирующую, или самостабилизирующую, способность непрерывных культур (Malek; Н. Д. Иерусалимский, 1966). В общем это свойство принадлежит любой проточной системе. При непрерывном плотностатном культивировании микроводорослей концентрация биомассы клеток в культуре задается экспериментатором в соответствии с толщиной светопринимающего слоя культуры и освещенностью.

Концентрацию любого элемента в фоновой среде находят из второго уравнения системы (1) с начальными условиями  $S = S'$  при  $t = 0$ .

$$S(t) = (S_0 - \alpha x) + [S' - (S_0 - \alpha x)] e^{-\mu t}. \quad (3)$$

Это уравнение показывает, что концентрация элемента в фоновой среде стабилизируется на постоянном уровне независимо от начальной концентрации:

$$\lim_{t \rightarrow \infty} S(t) = S_0 - \alpha x, \quad (4)$$

Известно, что для некоторых элементов их затрата на построение единицы биомассы не постоянна, а является функцией концентрации, в простейшем случае  $\alpha = \gamma S + m$ .

Нетрудно видеть, что и в этом случае происходит стабилизация фоновых концентраций.

Подставляем в третье уравнение системы (1)  $\alpha = \gamma S + m$  и, решая его, находим:

$$S(t) = \frac{S_0 - mx}{\gamma x + 1} + \frac{mx - S_0 - S'(\gamma x + 1)}{\gamma x + 1} e^{\mu t (\gamma x + 1)} \quad (5)$$

$$\lim_{t \rightarrow \infty} S(t) = \frac{S_0 - mx}{\gamma x + 1} \quad (6)$$

Так как культура микроводорослей светолимитирована, то имеются значительные области концентраций элементов в фоновой среде, в которых их значения не влияют на скорость роста культуры. Обозначив минимальную из таких концентраций  $S_\Phi$ , найдем уравнение для приговления питающей среды.

При постоянном значении  $\alpha$  из уравнения (4):

$$S_0 = S_\Phi + \alpha x. \quad (7)$$

При переменном  $\alpha$  из уравнения (6):

$$S_0 = S_\Phi (\gamma x + 1) + mx. \quad (8)$$

Накопление метаболитов в фоновой среде описывается третьим уравнением системы (1). Его решение дает:

$$p(t) = \beta x (1 - e^{-\mu t}), \quad (9)$$

$$\lim_{t \rightarrow \infty} p(t) = \beta x. \quad (10)$$

Уравнения (4), (6), (10) показывают, что химические условия в фоновой среде зависят только от концентрации биомассы клеток и стабилизируются вместе с ней. Из этого вытекает важность стабилизации концентрации биомассы клеток в культуре и необходимость использования автоматических устройств для ее осуществления.

Вторым условием культивирования, требующим стабилизации, является температура культуры (В. А. Батов).

Приведенные выше закономерности непрерывного плотностатного культивирования микроводорослей справедливы не только при непрерывной, но также при импульсной подаче среды и отборе суспензии, если объем, подаваемый и отбираемый в одном импульсе, мал по сравнению с объемом культуры в реакторе. При каждом импульсе подачи среды фоновая концентрация элемента повышается на величину  $\delta S_0$  ( $\delta$  — относительная величина объема, подаваемого в импульсе), а концентрация биомассы клеток снижается на величину  $\delta X$ . Если колебания этих параметров не выходят за пределы области их значений, в которой они не влияют на продуктивность процесса (а такие области по всем параметрам весьма значительны), то такой процесс культивирования, не являясь непрерывным в точном смысле его определения, весьма близок по своим закономерностям к нему и может быть назван «квазинепрерывным».

Теоретический анализ непрерывного плотностатного культивирования микроводорослей показал, что этот процесс требует участия всего 2 систем автоматического регулирования, используемых в качестве стабилизаторов уровня температуры суспензии и концентрации биомассы клеток в культуре. Это позволило воспроизвести такой процесс в экспериментальных условиях без сложных автоматических систем поискового регулирования.

В эксперименте изучен процесс непрерывного культивирования микроводорослей с продуктивностью до 100 л кислорода с квадратного метра освещаемой поверхности реактора и до 40 л и 1 л суспензии в сутки и создана автоматизированная установка, обеспечивающая потребности человека в кислороде. Флюктуации производительности процесса при этом превышают 15%, а длительность его ограничивается только сроком безаварийного функционирования технических условий культиватора и в экспериментах достигает более 1500 часов.

При резком изменении значения параметров культивирования — температуры, освещенности культуры и концентрации углекислоты — в питающей культуру газовой смеси изменяется продуктивность процесса культивирования; это изменение в большинстве случаев выражается в длительном (до 8—9 часов) переходном процессе колебательного характера, что необходимо учитывать при автоматизации процессов культивирования в звене одноклеточных водорослей.

В условиях космического полета наиболее вероятным источником света для культивирования микроводорослей является солнце. В связи с этим было предпринято сравнительное изучение культивирования микроводорослей в условиях искусственного и естественного освещения. Были использованы культиваторы, реакторы которых освещались прямым солнечным светом и искусственными источниками. Исследования показали, что эффективность процесса культивирования при использовании прямого и рассеянного солнечного света и света искусственных источников (ксеноновые газоразрядные и люминесцентные лампы) одинакова.

#### ЛИТЕРАТУРА

- Иерусалимский Н. Д. Основы физиологии микробов. М., 1963. — Он же. В кн.: Биохимия микробов. Горький, 1964, с. 22.—Иерусалимский Н. Д., Геронова Н. М.: Докл. АН СССР, 1965, т. 161, № 6, с. 1437. —Иерусалимский Н. Д. В кн.: Управляемый биосинтез. М., 1966, с. 5.—Степанова Н. В., Романовский Ю. М., Иерусалимский Н. Д. Докл. АН СССР, 1965, т. 163, № 5, с. 1266.—Aiba S., Humphrey A. E., Mills N. F., Biochemical Engineering. New York., 1965.—Malek I. и др. Kontinualni kultivace mikroorganismu. Praha, 1964.—Monod J., Ann. Inst. Pasteur, 1950, v. 79, p. 390.—Nowick A., Scillard L., Science, 1950, v. 112, p. 715.

Поступила 27/XII 1966 г.

#### ALGAL CONTINUOUS CULTURE AS A COMPONENT OF THE CLOSED ECOLOGICAL SYSTEM

L. V. Kirensky, I. A. Terskov, I. I. Gitelzon, G. M. Lisovsky,  
B. G. Kovrov, Yu. N. Okladnikov

It is recommended to use a continuous culture of unicellular algae grown at a constant density of the suspension as an autotrophic component of the closed ecological system. It is shown that under such conditions the stabilized concentration of the culture biomass causes a stability of every chemical parameter of the medium and cultivation productivity. An experimental cultivator with an automatic stabilization of the biomass concentration and culture temperature has been designed to provide oxygen requirements of a single man. It is demonstrated that the efficiency with which the algal culture can utilize solar and artificial light is similar.