

С. Ю. Горбунова, Я. Д. Жондарева

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ СТОЧНЫХ ВОД ПТИЦЕФАБРИК ДЛЯ УВЕЛИЧЕНИЯ ПРОДУКТИВНОСТИ *ARTHROSPIRA PLATENSIS* (NORDST.) GEITLER

Исследована возможность выращивания микроводоросли *Arthrospira platensis* на минерально-органической питательной среде, состоящей из стандартной среды Заррук и дополнительно вносимой вытяжки из куриного помета. Установлена оптимальная сбалансированность питательной среды по компонентному составу биогенных элементов для выращивания *A. platensis*. Построены графики, отображающие результаты проведенных экспериментов, и посредством аппроксимации линейной фазы роста вычислены основные характеристики роста культуры *A. platensis*. Определена зависимость кинетических характеристик роста *A. platensis* от концентраций вытяжки куриного помета в питательной среде. Установлено, что для интенсивного роста на органико-минеральной среде культуру *A. platensis* необходимо адаптировать к новым условиям выращивания. На основании проведенного экспериментального исследования дана количественная оценка роста и продуктивности микроводорослей в зависимости от условий культивирования, в данном случае — от состава питательной среды, и показано, что при культивировании *A. platensis* на питательной среде с 15%-ной вытяжкой из куриного помета, продуктивность культуры в 1,6 раз выше, чем на стандартной среде Заррук. Библиогр. 14 назв. Ил. 3. Табл. 2.

Ключевые слова: микроводоросли, *Arthrospira platensis*, вытяжка из куриного помета, питательная среда, продуктивность.

USING POULTRY FARMS WASTEWATER TO INCREASE *ARTHROSPIRA PLATENSIS* (NORDST.) GEITLER PRODUCTIVITY

S. Yu. Gorbunova, Ya. D. Zhondareva

The A. O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas, 2, pr. Nakhimova, Sevastopol, 299011, Russian Federation; svetlana_8423@mail.ru, janochka-kerch@yandex.ru

The possibility of microalgae *Arthrospira platensis* growing on mineral-organic medium, which consists of Zarrouk standard medium and chicken dung extract, has been investigated. The optimal balance of nutrient medium by the component composition of nutrients for *A. platensis* growing has been determined. The graphs representing results of the experiments have been built and the basic characteristics of growth of culture *A. platensis* have been calculated by approximating of the linear growth phase. Dependence of the *A. platensis* growth kinetic characteristics from chicken dung extracts concentrations in the nutrient medium has been determined. It has been found that *A. platensis* must be adapted to new culture conditions for intensive growth on the organic-mineral nutrient medium. Quantitative estimation of microalgae growth and productivity depending on culture conditions, in this case — from the composition of the nutrient medium, has been given, and it is shown that the productivity of culture was 1.6 times higher during cultivation on a nutrient medium with 15% extract from chicken dung than in Zarrouk standard medium. Refs 14. Figs 3. Tables 2.

Keywords: microalgae, *Arthrospira platensis*, chicken dung extract, nutrient medium, productivity.

В настоящее время микроводоросли широко изучаются не только в странах бывшего СНГ, но и в США, Японии, ФРГ, Франции, Италии, Швеции, Бельгии, Чехословакии, Болгарии, а также в других странах [1–6].

Широкий спектр применимости микроводорослей складывается из нескольких основных направлений: использование самой биомассы, использование био-

С. Ю. Горбунова (svetlana_8423@mail.ru), Я. Д. Жондарева (janochka-kerch@yandex.ru): Институт биологии южных морей им. А. О. Ковалевского, Российская Федерация, Севастополь, 299011, пр. Нахимова, 2

массы как сырья для получения каких-либо ценных веществ, а также применение ассимиляционных свойств микроводорослей для мелиорации водной среды. Эффективность развития этих направлений определяется оптимизацией процессов управляемого культивирования клеток водорослей и, соответственно, обеспечением их потенциально высоких продукционных свойств. Большое значение имеет научно обоснованная возможность корректировки химического состава питательных сред, что позволяет управлять процессами биосинтеза в клетках микроводорослей, сдвигать их в сторону накопления либо белков, либо углеводов, активировать образование тех или иных витаминов, а также управлять скоростью и степенью утилизации загрязненных вод, стоков очистных сооружений.

Значимость данных исследований также в значительной мере обусловлена тем, что современные очистные сооружения работают с нарушениями технологических режимов их эксплуатации и не способны в полном объеме обеспечить утилизацию и степень очистки, необходимую для сброса стоков в водные объекты. В конечном итоге наносится серьезный экономический, экологический и социальный ущерб не только сельскохозяйственным землям, но и жителям близлежащих населенных пунктов. Таким образом, большая часть органического сырья не перерабатывается и накапливается вблизи птицефабрик.

Решить проблему утилизации и переработки отходов птицефабрик и ферм, большую долю которых составляет помет, позволяет способность водорослей ассимилировать в качестве ростового субстрата более 90% всего азота и фосфора сточных вод. Частичная замена дорогостоящих минеральных солей, входящих в состав питательных сред для культивирования водорослей, на дополнительно вводимую вытяжку куриного помета позволяет снизить себестоимость их производства. Куриный помет — ценное, высококонцентрированное органическое удобрение, содержащее легкорастворимые питательные вещества и потому доступные для растений. В помете содержатся и такие ценнейшие микроэлементы, как медь, марганец, цинк, кобальт, бор, а также биоактивные вещества, при этом содержание ростостимуляторов достигает 43–55 мкг/кг [7–9].

В предварительных исследованиях нами было установлено, что, в частности, *Arthrospira platensis* при усвоении 1 мг фосфора одновременно потребляет 5–6 мг азота [10].

Материалы и методы

Экспериментальная работа выполнялась на базе отдела биотехнологий и фиторесурсов ИнБЮМ НАНУ. Объектом исследования послужила прокариотическая микроводоросль *Arthrospira platensis* (штамм IBSS-31) из коллекции культур ИнБЮМ НАНУ.

Микроводоросли культивировали в стеклянных фотобиореакторах плоскопараллельного типа объемом 3 л, размерами 40×20×5 см, с рабочей толщиной 5 см в условиях круглосуточного освещения. В качестве источника света использовали горизонтальную световую решетку, состоящую из 10 ламп дневного света General Electric F18W/54-765. Интенсивность освещения на поверхности культуры регистрировали при помощи люксметра Ю-116 погрешностью не более 5% от измеряемой величины. Средняя освещенность составляла 10 клк.

Эксперимент проводили в шести вариантах (далее № 1 (контроль), № 2–6). В качестве дополнительного источника биогенных элементов использовали вытяжку из куриного помета (ВКП), содержащую все основные элементы питания для микроводорослей. Для этого куриный помет (содержание влаги — 76%) разводили водой в соотношении 1:10 и сбразивали в закрытой емкости в течение двух суток. Чтобы осадить взвеси и снизить мутность, полученный раствор фильтровали и центрифугировали. рН полученной органической вытяжки составил 7,3. В шесть экспериментальных культиваторов вносили модифицированную питательную среду Заррук. Модификация заключалась в использовании в качестве источников азота и фосфора минеральных солей и вытяжки из куриного помета в различных соотношениях (табл. 1).

Таблица 1. Отношение концентраций азота и фосфора минерального и органического происхождения в модифицированной среде Заррук

№ эксперимента	Биогенные элементы (азот и фосфор)	
	Среда Заррук, %	ВКП, %
1	100	—
2	80	20
3	60	40
4	40	60
5	20	80
6	—	100

Таким образом, опираясь на литературные данные, по которым в 1 л вытяжки куриного помета, влажность которого 70–75%, в среднем содержится 1,1 г азота и 0,9 г фосфора, суммарные концентрации по азоту и фосфору соответствовали их концентрациям в стандартной питательной среде Заррук [11, 12].

Для равномерного распределения питательных веществ между клетками культура непрерывно барботировалась воздухом с помощью компрессора CR-40R, производительностью 2 л/мин. Температуру суспензии поддерживали в диапазоне 29–32°C. Испарение воды с поверхности компенсировали добавлением дистиллированной воды. На протяжении всего эксперимента отбор проб проводили ежедневно в 12.00. Отключали подачу воздуха и измеряли температуру и рН в культиваторах. Прирост биомассы определяли по изменению оптической плотности суспензии на СФ-2000 на длине волны 750 нм. Измерения проводили в кварцевых кюветах с длиной рабочей стороны 1 см. Погрешность измерения не превышала 1,0%. В качестве контроля использовали супернатант, соответствующий каждому из вариантов эксперимента. Для этого пробы каждого культиватора центрифугировали в течение 15 мин на центрифуге лабораторной ОПН-3 с максимальным фактором разделения $g = 1,870$ при 3000 об/мин. Переход от единиц оптической плотности (D_{750}) к величине абсолютно сухого веса (АСВ) осуществляли посредством эмпирического коэффициента k : $АСВ = k \cdot D_{750}$, где $k = 0,624 \pm 0,049$.

Результаты и обсуждение

Микроводоросли выращивали накопительным методом. В каждый культиватор вносили инокулят и питательную среду в такой пропорции, чтобы начальная плотность культуры во всех культиваторах была одинаковой ($D_{750} = 0,19$). Во всех вариантах опыта (рис. 1) начальная плотность культуры составляла около $0,1 \text{ г АСВ} \cdot \text{л}^{-1}$.

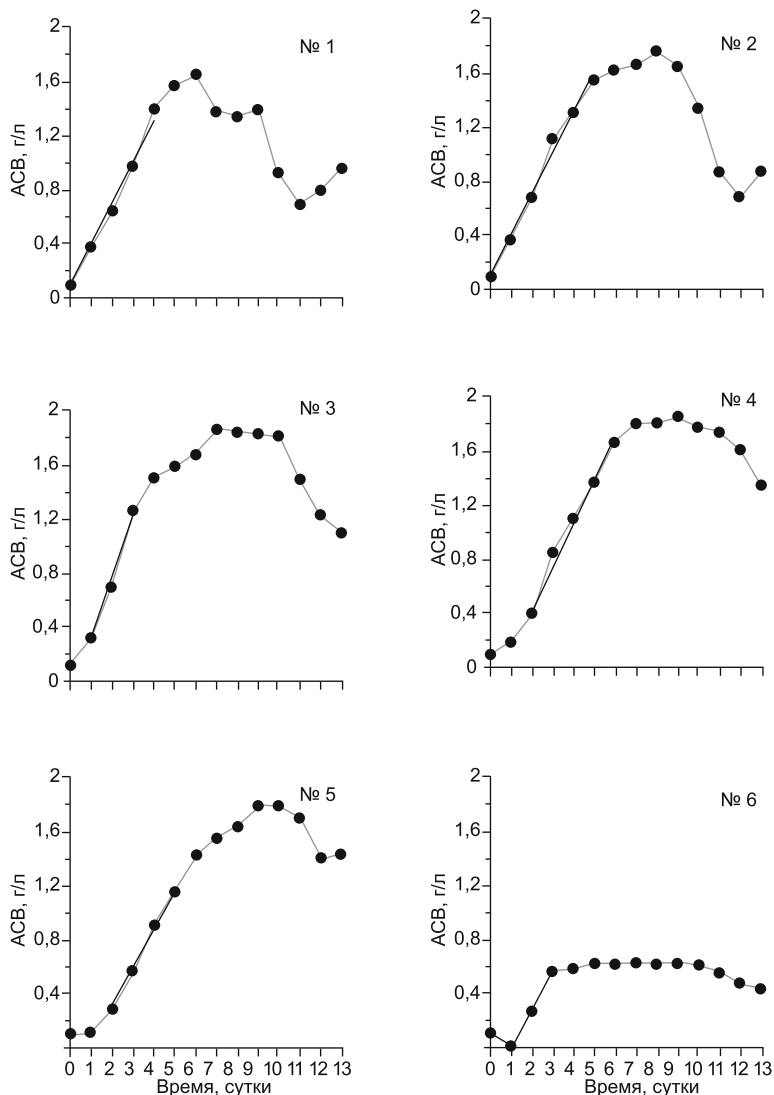


Рис. 1. Динамика плотности накопительной культуры *Arthrospira platensis* при различных концентрациях ВКП в культуральной среде

Так как *A. platensis* изначально была адаптирована к питательной среде Заррук, то с первых суток эксперимента в контрольном варианте наблюдалось начало линейного роста культуры. В культиваторе № 2 добавление в питательную среду

7,5%-ной органической вытяжки заметного влияния на прирост микроводорослей не оказывало. Однако уже в третьем варианте эксперимента первоначальный рост *A. platensis* имел экспоненциальный характер. Аналогичная тенденция наблюдалась и в остальных культиваторах.

С увеличением концентрации органической вытяжки в питательной среде прирост водорослей в вариантах № 3, 4 и 5 ниже контрольного на 25,6, 69,4 и 93,2% соответственно. При этом в опыте № 6 рост вовсе отсутствует и наблюдается отмирание биомассы.

Следует отметить, что на прирост водорослей за первые сутки эксперимента существенное влияние оказывает уровень концентрации органической вытяжки в питательной среде (рис. 2).

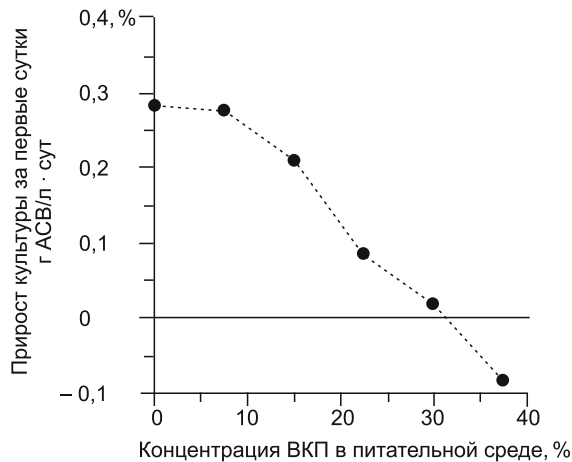


Рис. 2. Зависимость прироста накопительной культуры *Arthrospira platensis* за первые сутки эксперимента от концентрации ВКП в питательной среде

Таким образом, для интенсивного роста на органико-минеральной среде культуры *A. platensis* необходимо адаптировать к новым условиям выращивания. И время адаптации имеет обратно пропорциональную зависимость от концентрации ВКП в питательной среде.

Аппроксимацией линейной фазы роста [13], вычислили основные характеристики роста культуры для всех вариантов эксперимента (табл. 2).

На рис. 3 показано, что внесение 15%-ной органической вытяжки из куриного помета стимулирует интенсивный рост *A. platensis*. На 7-е сутки эксперимента в культиваторе № 3 отмечена максимальная продуктивность микроводорослей — 0,46 г/л·сут., что в 1,6 раз выше, чем на стандартной среде Заррук.

Следует отметить тот факт, что, используя выросшую на стоках птицефабрик биомассу микроводорослей, можно решить еще одну не менее важную биотехнологическую проблему — проблему несбалансированности рационов кормления животных.

Таблица 2. Параметры роста накопительной культуры *A. platensis* на минерально-органической питательной среде

№ эксперимента	Концентрация ВКП в питательной среде, %	P_m , г/л·сут	B_0 , г АСВ/л	B_{max} , г АСВ/л
1	0	0,29	0,1	1,55
2	7,5	0,31	0,1	1,68
3	15	0,46	0,1	1,75
4	22,4	0,33	0,1	1,70
5	29,9	0,27	0,1	1,69
6	37,4	0,27	0,1	0,52

Примечание. ВКП — вытяжка из куриного помета; P_m — максимальная продуктивность культуры *A. platensis*, г/л·сут; B_0 — начальная плотность культуры *A. platensis*, г АСВ/л; B_{max} — максимальная плотность культуры *A. platensis*, г АСВ/л.

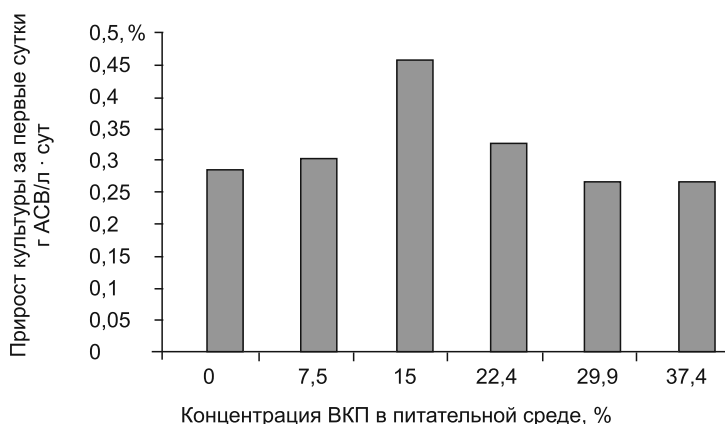


Рис. 3. Зависимость максимальной продуктивности (P_m) накопительной культуры *Arthrospira platensis* от начальной концентрации ВКП в питательной среде

Чтобы достичь требуемого уровня содержания в рационах сельскохозяйственных животных и птиц питательных и биологически активных веществ, многим хозяйствам приходится использовать всевозможные кормовые добавки.

Исходя из результатов многолетних экспериментальных исследований ученых всего мира [1, 7, 9, 14], с введением спирулины в рацион сельскохозяйственных животных и птиц увеличиваются темпы их роста, привесы за счет более полного усваивания кормов, возрастает устойчивость к заболеваниям, плодовитость и удойность. В результате мы можем употреблять натуральное мясо и молоко, при производстве которых не используются искусственные стимуляторы роста и антибиотики. Обращает на себя внимание увеличение процента яйценоскости кур,

средней массы полученных яиц, и, что немаловажно для промышленного производства товарных и инкубационных яиц, увеличение массы скорлупы и улучшение ее качества [7, 14].

На основании аналитического обзора литературных данных и собственных экспериментальных исследований обоснована эффективность использования микроводорослей в процессе утилизации отходов птицефабрик с целью мелиорации водной среды. Показано, что при выращивании *A. platensis* на питательной среде с 15%-ной вытяжкой из куриного помета, продуктивность культуры в 1,6 раз выше, чем на стандартной среде Заррук.

Органическая вытяжка куриного помета может служить богатым источником питательных веществ и широко использоваться в практике массового культивирования микроводорослей, что позволит снизить себестоимость биомассы *A. platensis* за счет использования не только химических питательных смесей и минеральных вод для приготовления культуральных сред.

Таким образом, чтобы повысить продуктивность *A. platensis* и при этом снизить себестоимость биомассы микроводорослей, для приготовления питательной среды целесообразно использовать органическую вытяжку из куриного помета как дополнительный источник питательных и ростостимулирующих элементов. Такой подход позволит решить немаловажную проблему утилизации отходов птицефабрик, а также проблемы экологического, энергетического, агрохимического характера и послужит основой для создания в сельскохозяйственном производстве безотходных экологически чистых технологий.

Литература

1. *Saym P, Yumtjik A.* Основы альгологии / пер. с англ. К. Л. Тарасова. М.: Мир, 1990. 597 с.
2. *Muller-Feuga A.* The role of microalgae in aquaculture: situation and trends // *J. Appl. Phycol.* 2000. N. 12. P. 527–534.
3. *Spolaore P, Joannis-Cassan C., Duran E., Isambert A.* Commercial applications of microalgae (Review) // *J. Biosci. Bioeng.* 2006. Vol. 101, N 2. P. 87–96.
4. *Бородай В. Д.* Про переробку відходів: наслідки нераціонального використання відходів від забою ВРХ і птиці // *Мясное дело.* 2006. № 3. С. 72–73.
5. *Faucher O., Coupal B., Leduy A.* Utilization of scawater — urea as a culture medium for *Spirulina maxima* // *National Research Counsel of Canada.* 1979. P. 752–759.
6. *Карabanov E. П.* Использование нетрадиционных источников белка (сухой птичий помет) для кормления крупного рогатого скота // *Ефективні корми та годівлі.* 2007. № 8. С. 37–38.
7. *Зарунов Э.* Физиологические особенности и культивирование синезеленой водоросли *Spirulina platensis* Geitl. в связи с возможностью ее практического использования в Узбекистане: автореф. дис. ... канд. биол. наук. Ленинградский государственный университет им. Жданова. Л., 1982. 16 с.
8. *Пат.* № 2192459 (RU), МКП С12N1/12. Штамм микроводоросли *Chlorella vulgaris* BIN для получения биомассы и очистки сточных вод / Н. И. Богданов. (RU); заявитель Богданов Николай Иванович (RU). № 2001110341/13; Заявл. 18.04.2001. Опубл. 10.11.2002. Бюл. № 31.
9. *Richmond A.* Microalgal biotechnology at the turn of the millennium: A personal view // *J. Appl. Nycology.* 2000. N 12. P. 441–451.
10. *Горбунова С. Ю., Боровков А. Б., Тренкениш Р. П.* Продуктивность культуры *Arthrospira platensis* (Nordst.) Geitl. (Cyanoprocarcyota) при различной обеспеченности минеральным фосфором // *Альгология.* 2011. Т. 21, № 3. С. 374–384.
11. *Лысенко В. П.* Подготовка и переработка помета на птицефабриках. (Научно-практические рекомендации.) Сергиев Посад: ВНИТИП, 2006. 126 с.
12. *Гудилин И. И., Кондратов А. Ф., Чичин А. А.* Биотехнология переработки органических отходов и экология. Новосибирск, 1999. 391 с.

13. Тренкеншу Р.П. Простейшие модели роста микроводорослей. 1. Периодическая культура // Экол. моря. 2005. Вып. 67. С. 89–97.

14. Borowitzka M. A., Borowitzka L. J. Vitamins and fine chemicals from micro-algae // Micro-algal biotechnology. 1988. P. 153–196.

References

1. Saut R., Uttik A. *Osnovy al'gologii* [Algology basics]. Moscow, Mir Publ., 1990, 597 p. (In Russian)
2. Muller-Feuga A. The role of microalgae in aquaculture: situation and trends . *J. Appl. Phycol.*, 2000, no. 12, pp. 527–534.
3. Spolaore P., Joannis-Cassan C., Duran E., Isambert A. Commercial applications of microalgae (Review). *J. Biosci. Bioeng.*, 2006, vol. 101, no. 2, pp. 87–96.
4. Borodai V. D. Pro pererobku vidkhodiv: naslidki neratsional'nogo vikoristannia vidkhodiv vid zaboju VRKh i ptitsi [About waste recycling: implications from waste wastage from cattle and poultry slaughter]. *Miasnoe delo* [Meat case], 2006, no. 3, pp. 72–73. (In Ukrainian)
5. Faucher O., Coupal B., Leduy A. Utilization of scawater — urea as a culture medium for *Spirulina maxima*. *National Research Counsel of Canada*, 1979, pp. 752–759 .
6. Karabanov E. P. Ispol'zovanie netraditsionnykh istochnikov belka (sukhoi ptichii pomet) dlia kormleniia krupnogo rogatogo skota [The use of non-conventional sources of protein (dry chicken manure) for cattle feeding]. *Efektivni kormi ta godivli* [Effective food and nutrition], 2007, no. 8, pp. 37–38. (In Ukrainian)
7. Zaripov E. *Fiziologicheskie osobennosti i kul'tivirovanie sinezelenoi vodorosli Spirulina platensis Geitl. v sviazi s vozmozhnost'iu ee prakticheskogo ispol'zovaniia v Uzbekistane*. Diss. kand. biol. nauk [Physiological characteristics and cultivation of the cyanophyte alga *Spirulina platensis* Geitl. due to the possibility of its practical use in Uzbekistan. PhD in Biology]. Leningrad, 1982, 16 p. (In Russian)
8. Bogdanov N. I. *Shtamm mikrovodorosli Chlorella vulgaris BIN dlia polucheniia biomassy i oчитki stochnykh vod* [Strain of microalgae *Chlorella vulgaris* BIN for obtainment of biomass and waste-water treatment]. Patent RF, no. 2192459, 2002. (In Russian)
9. Richmond A. Microalgal biotechnology at the turn of the millennium: A personal view. *J. Appl. Hycology*, 2000, no. 12, pp. 441–451.
10. Gorbunova S. Iu., Borovkov A. B., Trenkenshu R. P. Produktivnost' kul'tury *Arthrospira platensis* (Nordst.) Geitl. (Cyanoprocaryota) pri razlichnoi obespechennosti mineral'nym fosforom [Crop productivity of *Arthrospira platensis* (Nordst.) Geitl. (Cyanoprocaryota) at different availability of mineral phosphorus]. *Algologiya* [Algology], 2011, vol. 21, no. 3, pp. 374–384. (In Russian)
11. Lysenko V. P. *Podgotovka i pererabotka pometa na ptitsefabrikakh. (Nauchno-prakticheskie re-komendatsii.)* [Preparation and processing of litter at poultry farm. (Scientific and practical recommendations.)]. Sergiev Posad, VNITIP Publ., 2006, 126 p. (In Russian)
12. Gudilin I. I., Kondratov A. F., Chichin A. A. *Biotekhnologiya pererabotki organicheskikh otkhodov i ekologiya* [Biotechnology of organic waste recycling and the environment]. Novosibirsk, Kn. izd-vo, 1999, 391 p. (In Russian)
13. Trenkenshu R. P. Prosteishie modeli rosta mikrovodoroslei. 1. Periodicheskaia kul'tura [The simplest model of microalgae growth. 1. Periodic culture]. *Ekol. Moria* [Marine Ecology], 2005. no. 67, pp. 89–97. (In Russian)
14. Borowitzka M. A., Borowitzka L. J. Vitamins and fine chemicals from micro-algae. *Micro-algal biotechnology*, 1988, pp. 153–196.
15. Levich A. P., Maksimov V. N., Bulgakov N. G. *Teoreticheskaia i eksperimental'naia ekologiya planktonnykh vodoroslei: upravlenie strukturoi i funktsiiami soobshchestv* [Theoretical and experimental ecology of planktonic algae: management of structure and functions of communities]. Moscow, NIL Publ., 1997, 184 p. (In Russian)

Статья поступила в редакцию 4 сентября 2014 г., принята в печать 29 октября 2014 г.

Сведения об авторах

Горбунова Светлана Юрьевна — кандидат биологических наук

Жондарева Яна Дмитриевна — аспирант

Gorbunova Svetlana Yu. — Ph.D.

Zhondareva Yana D. — Post graduate student