

## Расчёт максимальной продуктивности *Dunaliella salina* Teod. в условиях естественного освещения

© 2021. А. С. Лелеков, к. б. н., с. н. с.,  
А. Б. Боровков, к. б. н., в. н. с., И. Н. Гудвилевич, к. б. н., с. н. с.,  
Т. М. Новикова, м. н. с., А. Л. Авсиян, м. н. с.,  
О. А. Меметшаева, вед. инженер, Р. П. Тренкеншу, к. б. н., в. н. с.,  
ФИЦ Институт биологии южных морей им. А. О. Ковалевского РАН,  
299011, Россия, г. Севастополь, пр. Нахимова, д. 2,  
e-mail: a.lelekov@yandex.ru, nowtanj@yandex.ru

Работа посвящена расчёту максимальной наблюдаемой скорости роста зелёной галофильной микроводоросли *Dunaliella salina* в условиях естественного освещения южных регионов России (на примере г. Севастополя). Наблюдаемая скорость роста *D. salina* определялась как разность между валовой продуктивностью и скоростью эндогенного расхода биомассы. Валовая продуктивность определяется притоком энергии фотосинтетически активной радиации, коэффициентом поглощения, а также эффективностью (КПД) её утилизации. При расчёте валовой продуктивности предполагалось, что вся падающая на поверхность бассейна световая энергия поглощается культурой микроводорослей. Средняя величина КПД за световой день составила 5,58%. Скорость эндогенного расхода биомассы определяли исходя из величины ночных потерь, которые для *D. salina* составили около 5%. Показано, что максимальная наблюдаемая продуктивность культуры *D. salina* в условиях естественного освещения южных регионов России не может превышать 26 г СВ/(м<sup>2</sup>·сут).

**Ключевые слова:** *Dunaliella salina*, естественное освещение, КПД фотобиосинтеза, продуктивность, моделирование.

## Estimation of *Dunaliella salina* Teod. maximum productivity under natural illumination

© 2021. A. S. Lelekov ORCID: 0000-0003-1213-7963, A. B. Borovkov ORCID: 0000-0001-6612-491X,  
I. N. Gudvilovich ORCID: 0000-0001-7412-8283, T. M. Novikova ORCID: 0000-0002-6366-6470,  
A. L. Avsiyan ORCID: 0000-0002-2828-9614, O. A. Memetshaeva ORCID: 0000-0003-3773-7703,  
R. P. Trenkenshu ORCID: 0000-0003-3727-303X,  
A. O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas of RAS,  
2, Nakhimova Av., Sevastopol, Russia, 299011,  
e-mail: a.lelekov@yandex.ru, nowtanj@yandex.ru

The research deals with theoretical calculation of the maximal growth rate of green halophilic microalga *Dunaliella salina* in the conditions of natural illumination at South regions of Russia (Sevastopol city as an example). The calculation is based on the concept that microalgae growth rate is defined as the difference between gross productivity and endogenous biomass expenditure rate. Gross productivity is a function of photosynthetic active radiation (PAR), absorption coefficient and energy utilization efficiency. For maximal productivity calculation it is suggested that all incident of the pond surface light energy is absorbed by microalgae culture. As far as photobiosynthesis efficiency value depends on illuminance in a complex way, we used average value 5.58%. The rate of endogenous biomass expenditure was determined based on the value of night losses, which for *D. salina* was about 5%. Computations showed that for *D. salina* maximum biomass gain makes 26 g DW/(m<sup>2</sup> · day). It is shown that the maximum observed productivity of *D. salina* in the conditions of natural light in the southern regions of Russia cannot exceed 26 g DW/(m<sup>2</sup> · day).

**Keywords:** *Dunaliella salina*, natural lighting, efficiency photobiosynthesis, productivity, modeling.

доросли, как правило, выращивают в фотобиореакторах под открытым небом, что обуславливает суточную ритмику роста и биосинтеза. Известно, что при росте микроводорослей в условиях естественного освещения наблюдаются суточные колебания скорости роста культуры и продукции основных биохимических компонентов (белков, жиров, углеводов) [3]. Параметр продуктивности (скорости роста) микроводорослей можно рассматривать как обобщённую характеристику её физиологического состояния, так как он включает в себя всю совокупность биосинтетических и биоконверсионных процессов в клетках [4].

Юг России (Севастополь, Крым, Кавказское побережье) является самым перспективным для промышленного производства биомассы различных видов микроводорослей, так как характеризуется высоким притоком фотосинтетически активной радиации (ФАР) [5]. На сегодняшний день проводятся многочисленные исследования влияния света на первичную продукцию фитопланктона для различных географических широт [6, 7], а также скорость роста культур микроводорослей, выращиваемых в условиях естественного освещения [8, 9]. Разработаны модели, позволяющие количественно описать взаимосвязь продуктивности с облучённостью поверхности бассейнов, температурой, концентрацией основных биогенных элементов, растворённого кислорода [9–12]. Однако верификация разработанных моделей проведена на различных видах микроводорослей и для различных географических широт, поэтому их применение для условий юга России при культивировании *D. salina* затруднительно.

*Dunaliella salina* культивируется в промышленных масштабах с конца прошлого века. В литературе приводятся немногочисленные данные об её скорости роста в условиях открытых бассейнов. Так, среднегодовая продуктивность *D. salina* составила 1,65 г СВ/(м<sup>2</sup>·сут), а продукция β-каротина – 0,1 г/(м<sup>2</sup>·сут) для условий проточной культуры, 10 см глубины бассейна, 0,7–0,9 млн кл./мл [13]. Максимальная продуктивность составила около 3 г СВ/(м<sup>2</sup>·сут) и продукция β-каротина – 0,3 г/(м<sup>2</sup>·сут), максимальный приток солнечной радиации в области ФАР составлял около 12 МДж/(м<sup>2</sup>·сут) в июне месяце в районе юго-западной Испании. По нашим данным [14], продуктивность *D. salina* достигает 3,59 г СВ/(м<sup>2</sup>·сут) при её выращивании в условиях центрального Крыма. Поэтому возникает вопрос об оценке максимально возмож-

ной, предельной скорости роста *D. salina*, которая ограничена только световыми условиями.

Цель данной работы – расчёт максимальной продуктивности *D. salina* в условиях естественного освещения г. Севастополя.

### Объекты и методы исследования

Культура *D. salina* Teod. (штамм IMSS-2 из ЦКП «Коллекция гидробионтов Мирового океана» ФИЦ ИнБЮМ) выращивалась в условиях альгобиотехнологического модуля, расположенного на базе Института биологии южных морей им. А.О. Ковалевского РАН (ФИЦ ИнБЮМ) г. Севастополя. Бассейны модуля являлись моделью естественных гиперсолёных водоёмов, представляющих интерес для хозяйственного использования [15]. Освещённость и температуру определяли с помощью автоматического датчика [16]. Датчик был откалиброван на стандартный люксметр Ю-116. Культуру *D. salina* выращивали на среде Ben-Amoth [17]. Толщина слоя суспензии составляла 9 см, объём – 65 л, площадь освещаемой поверхности – 0,72 м<sup>2</sup>.

В эксперименте проводили измерение температуры, оптической плотности культуры *D. salina*. Оптическую плотность рассчитывали по формуле:

$$D = -\lg(T), \quad (1)$$

где  $T$  – величина пропускания, определяемая на фотометре UNICO-2100 (United Products & Instruments, USA) при длине волны 750 нм, погрешность измерения величины пропускания не превышала 1%. Кюветы располагали максимально близко к фотоприёмнику, что позволяло снизить ошибку измерения оптической плотности культуры, связанную с светорассеянием. При пересчёте единиц оптической плотности на сухую биомассу (СВ) использовали эмпирический коэффициент 0,78 [14].

### Результаты и обсуждение

Наблюдаемая скорость роста культуры микроводорослей определяется разностью между валовой продуктивностью и скоростью эндогенного расхода биомассы. Валовая продуктивность  $P_0$  определяется притоком энергии ФАР, коэффициентом поглощения, а также эффективностью её утилизации [4]. Для определения  $P_0$  воспользуемся выражением:

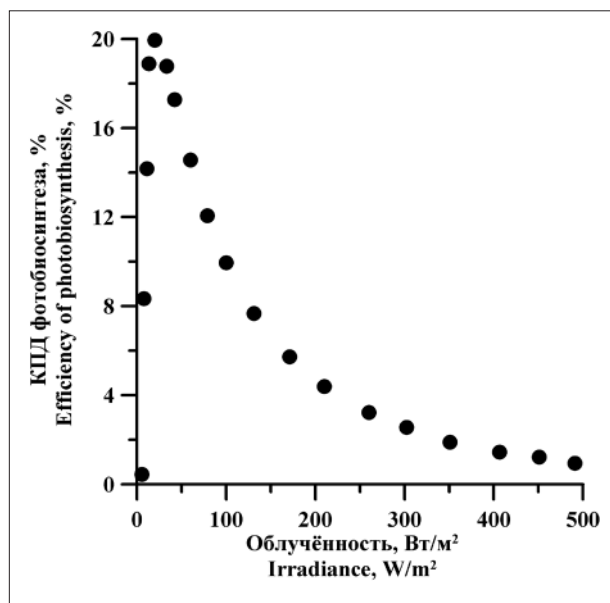


Рис. 1. Зависимость КПД фотобиосинтеза *Platymonas viridis* от облучённости [19]  
 Fig. 1. Relationship between photobiosynthesis efficiency *Platymonas viridis* and irradiance [19]

$$P_0 = \eta \cdot \frac{E}{R}, \quad (2)$$

где  $\eta$  – КПД фотобиосинтеза,  $E$  – суммарное количество энергии в области ФАР, приходящее на поверхность бассейна,  $R$  – калорийность биомассы.

При расчёте будем считать, что вся энергия поглощается суспензией микроводорослей.

Ранее показано, что при плотности культуры, превышающей 0,5 г СВ/л, и глубине бассейна не менее 10 см такое предположение близко к истине [4].

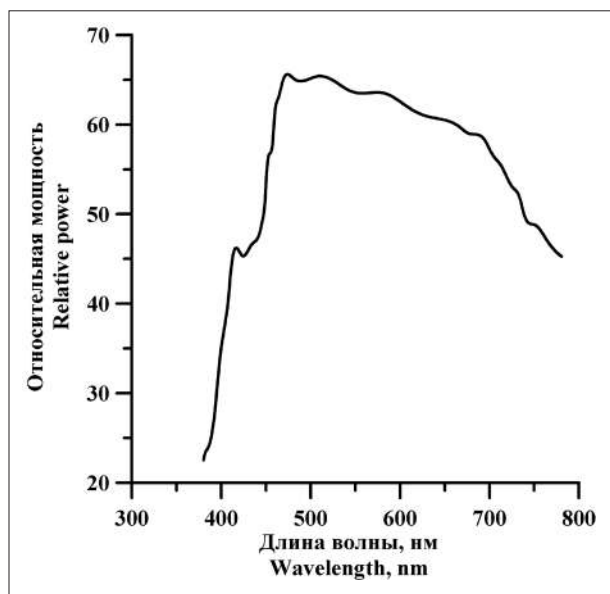
Согласно литературным данным, КПД фотобиосинтеза определяется количеством приходящей световой энергии и имеет сложный характер зависимости от поверхностной облучённости [18, 19]. В современной литературе отсутствуют сведения о КПД фотобиосинтеза культуры *D. salina*. Поэтому для расчётов воспользуемся данными работы [19] для зелёной микроводоросли *Platymonas viridis*, характеризующейся идентичным набором пигментов (рис. 1).

При расчёте валовой продуктивности *D. salina* использовали среднее значение КПД за световой день, которое составило:

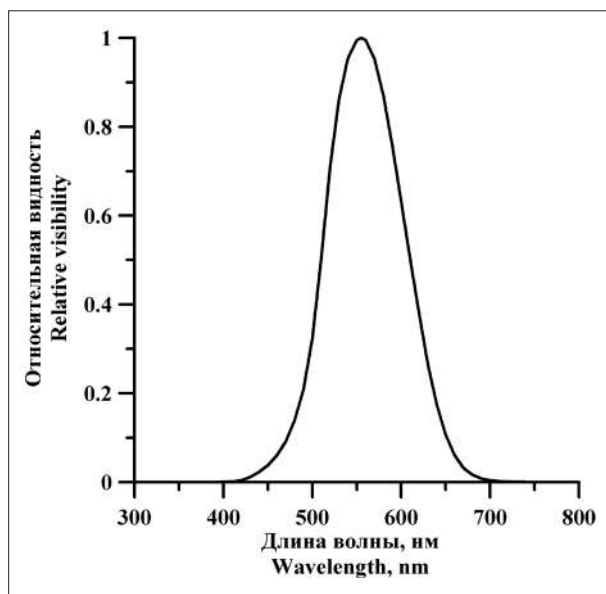
$$\eta = \frac{\int_5^{491} \eta(E)}{491 - 5} \cong 5,58\%.$$

Оценим суммарное количество энергии в области ФАР, попадающее на поверхность бассейна в течение светового дня. Спектральный состав солнечной радиации представлен на рисунке 2 [20]. Для наших условий (г. Севастополь) максимальная высота солнцестояния составляет около 68 градусов 22 июня (день летнего солнцестояния).

Для определения количества полной энергии ФАР, приходящейся на поверхность бас-



A



B

Рис. 2. А – Распределение энергии в солнечном свете в области ФАР в районе г. Севастополя 22.06.2018 г. [20]; В – спектр люксметра on 22.06.2018 [20]; В – luxmeter spectrum

сейна, необходимо перевести определяемую датчиком [16] освещённость в энергетические единицы облучённости. Для этого используем соотношение [21]:

$$E_0 = 1,464 \cdot 10^{-3} \cdot N \cdot E_v, \quad (3)$$

где  $E_0$  – облучённость, Вт/м<sup>2</sup>;  $E_v$  – освещённость поверхности, лк;  $N$  – отношение величин полной и определяемой люксметром световой энергии.

Для нахождения  $N$  вычислим долю энергии  $\delta_i$ , которая высвечивается на каждой длине волны. Для этого просуммируем все величины относительной мощности излучения, далее для каждой длины волны разделим относительную мощность на полученную сумму. Умножая  $\delta_i$  соответствующее значение относительной видности, определим количество определяемой люксметром световой энергии. С учётом указанных спектров (рис. 2), величина  $N$  составляет 3,04.

Таким образом, при максимальной за световой день освещённости в 85,57 клк на поверхность бассейна падает:

$$E_0 = 1,464 \cdot 10^{-3} \cdot 3,04 \cdot 85570 = 380,84 \text{ Вт/м}^2$$

Изменение облучённости в течение суток представлено на рисунке 3. Суммарная энергия, падающая за световой день на поверхность

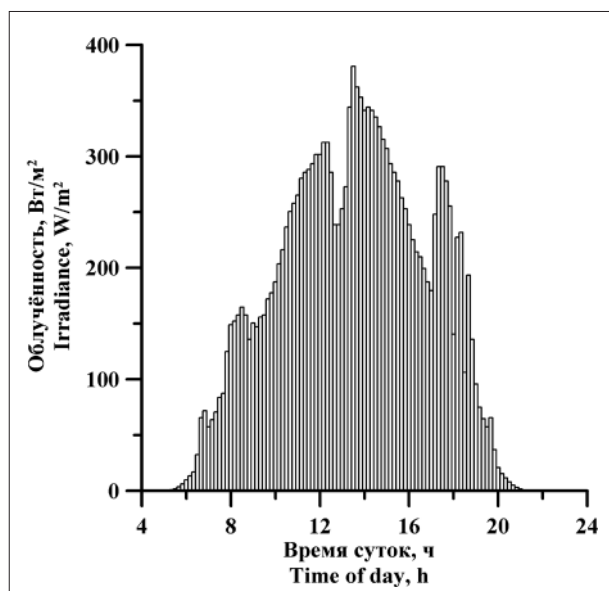


Рис. 3. Зависимость облучённости (Вт/м<sup>2</sup>) в ФАР диапазоне от времени суток в районе г. Севастополя 22.06.2018 г

Fig. 3. Relationship between the irradiance (W/m<sup>2</sup>) at PAR range and time of day at Sevastopol city region on 22.06.2018

бассейна, составляет 10,38 МДж/м<sup>2</sup>. Полученное значение примерно на 15% ниже, чем для широты Испании, где максимальный приток солнечной радиации в области ФАР составляет около 12 МДж/м<sup>2</sup> [13].

Средняя калорийность  $R$  1 г биомассы *D. salina*, как и многих других видов микроводорослей, составляет около 5 ккал или 20,86 кДж [18]. Отметим, что калорийность биомассы определяется её биохимическим составом (соотношением белков, жиров и углеводов), который может варьировать в широких пределах и определяется условиями роста [22]. При дальнейших расчётах будем использовать указанное среднее значение калорийности.

Таким образом, валовая продуктивность *D. salina* для среднего за световой день значения КПД фотобiosинтеза, при её выращивании в бассейне альгобиотехнологического модуля, расположенного на базе ФИЦ ИнБЮМ г. Севастополя, составит:

$$P_0 = 0,558 \cdot \frac{10385,91}{20,86} \cong 27,8 \text{ г СВ/(м}^2 \cdot \text{сут)}.$$

При росте микроводорослей в условиях естественного свето-темнового режима в общем балансе продукции необходимо учитывать ночную потерю биомассы (НПБ), которая происходит за счёт дыхания клеток, а также выделения экзометаболитов в среду [4]. Ночную потерю биомассы (как долю от биомассы в конце светового периода) можно выразить:

$$\text{НПБ} = \frac{B_L - B_D}{B_L} \cdot 100\%,$$

где  $B_L$  – плотность культуры в конце предыдущего светового периода (г СВ/л),  $B_D$  – плотность биомассы в конце темнового периода (г СВ/л).

В рамках эксперимента по культивированию *D. salina* в условиях естественного светового режима в регионе г. Севастополя было проведено исследование суточной динамики накопления биомассы. Ночная потеря биомассы составила 4,7–5,6% от биомассы как на основании измерений оптической плотности культуры, так и на основании измерений сырого и сухого веса. Таким образом, максимальная наблюдаемая продуктивность *D. salina* составит около 26 г СВ/(м<sup>2</sup> · сут).

Согласно литературным данным, максимальная продуктивность микроводорослей для условий естественного освещения достигает 21 г СВ/(м<sup>2</sup> · сут) для *Spirulina platensis* [23].

Для *D. salina* эта величина составляет по разным данным 3–3,5 г СВ/(м<sup>2</sup>·сут) [13, 14]. Вероятно, снижение продуктивности обусловлено лимитированием её роста биогенными элементами среды. Реализация максимальной возможной скорости роста *D. salina* осуществима только в искусственных условиях биотехнологических комплексов с высоким уровнем обеспеченности минеральным питанием. В условиях естественных водоёмов скорость роста *D. salina* будет значительно ниже.

### Заключение

В работе проведён расчёт максимальной наблюдаемой продуктивности микроводоросли *D. salina* для южных регионов России на примере г. Севастополя. В качестве исходных данных для расчёта был выбран спектр солнечной энергии в летний период, суточное изменение освещённости на поверхности бассейна, а также зависимость КПД фотобиосинтеза от облучённости ФАР. На практике при культивировании *D. salina* в естественных условиях продуктивность будет снижаться из-за уменьшения количества приходящей энергии ФАР, из-за облачности, ограничения роста культуры минеральными элементами питательной среды, температурными условиями. Тем не менее, рассчитанная величина максимальной продуктивности близка к экспериментально определённому значению [23]. Следовательно, продуктивность *D. salina* в 26 г СВ/(м<sup>2</sup>·сут) можно рассматривать как некий ориентир при организации промышленных производств в условиях южных регионов России.

*Работа выполнена в рамках государственного задания ФИЦ ИнБЮМ по теме «Исследование механизмов управления продукционными процессами в биотехнологических комплексах с целью разработки научных основ получения биологически активных веществ и технических продуктов морского генезиса» № гос. регистрации 121030300149-0 (теоретические расчёты) и при финансовой поддержке РФФИ и города Севастополь в рамках научного проекта № 18-44-920009 (экспериментальные работы).*

### References

1. Varfolomeev S.D., Wasserman L.A. Microalgae as source of biofuel, food, fodder, and medicines // Applied Biochemistry and Microbiology. 2011. V. 47. No. 9. P. 789–807. doi: 10.1134/S0003683811090079

2. Shinkarev S.M., Samuylenko A.Ya., Grin S.A., Neminushchaya L.A., Skotnikova T.A., Pavlenko I.V., Kanarskiy A.V. The prospect of the development of microalgae production technology // Vestnik tekhnologicheskogo universiteta. 2017. V. 20. No. 14. P. 146–149 (in Russian).

3. Torzillo G., Sacchi A., Materassi R., Richmond A. Effect of temperature on yield and night biomass loss in *Spirulina platensis* grown outdoors in tubular photobioreactors // J. Appl. Phycol. 1991. V. 3. P. 95–100. doi: 10.1016/0960-8524(91)90137-9

4. Trenkenshu R.P., Lelekov A.S. Modeling of microalgae growth in culture. Sevastopol: OOO Konstanta-Print, 2017. 152 p. (in Russian). doi: 10.21072/978-5-906952-28-8

5. Guide to the climate of the USSR. Solar radiation, radiation balance and sunshine. Leningrad: Gidrometizdat, 1966. 124 p. (in Russian).

6. Duduina T.V. Primary production of phytoplankton and the community of bottom producers of the South-Eastern Barents Sea in the polar day // Trudy VNIRO. 2014. V. 152. P. 155–168 (in Russian).

7. Egorov V.N., Popovichev V.N., Gulin S.B., Bobko N.I., Rodionova N.Yu., Tsarina T.V., Marchenko Yu.G. Influence of primary production of phytoplankton on the turnover of nutrients in the coastal waters of Sevastopol (Black sea) // Biologiya morya. 2018. V. 44. No. 3. P. 207–214 (in Russian).

8. Yadala S., Cremaschi S. A dynamic optimization model for designing open-channel raceway ponds for batch production of algal biomass // Processes. 2016. V. 4. No. 2. P. 1–31. doi: 10.3390/pr4020010

9. Grobbelaar J.U., Soeder C.J., Stengel E. Modeling algal productivity in large outdoor cultures and waste treatment systems // Biomass. 1990. V. 21. No. 4. P. 297–314. doi: 10.1016/0144-4565(90)90079-Y

10. Hill T.D., Lincoln E.P. Development and validation of a comprehensive model of large-scale production of microalgae // Agricultural Wastes. 1981. V. 4. No. 1. P. 43–64. doi: 10.1016/0141-4607(81)90006-8

11. Sukenik A., Levy R.S., Levy Y., Falkowski P.G., Dubinsky Z. Optimizing algal biomass production in an outdoor pond: a simulation model // J. Appl. Phycol. 1991. V. 3. No. 3. P. 191–201. doi: 10.1007/BF00003577

12. Asmare A.M., Demessie B.A., Murthy G.S. Theoretical estimation the potential of algal biomass for biofuel production and carbon sequestration in Ethiopia // Int. Jour. Renew. Ener. Res. 2013. V. 3. No. 3. P. 560–570.

13. García-González M., Moreno J., Cañavate J.P., Anguis V., Prieto A., Manzano C., Florencio F.J., Guerrero M.G. Conditions for open-air outdoor culture of *Dunaliella salina* in southern Spain // J. Appl. Phycol. 2003. V. 15. P. 177–184. doi: 10.1023/A:1023892520443

14. Trenkenshu R.P., Gevorgiz R.G., Borovkov A.B. Basics of industrial cultivation of *Dunaliella* saltwater (*Dunaliella salina* Teod.). Sevastopol: EKOSI-Gidrofizika, 2005. 103 p. (in Russian).

15. Anufrieva E.V., Shadrin N.V., Shadrina S.N. History of the biodiversity study of Crimea hypersaline waters // *Aridnye ekosistemy*. 2017. V. 4. No. 70. P. 64–71 (in Russian).
16. Chekushkin A.A., Lelekov A.S., Trenkenshu R.P. Simulation of diurnal variation of illuminance in the Sevastopol // *Aktualnye voprosy biologicheskoy khimii i fiziki*. 2018. V. 3. No. 3. P. 547–552 (in Russian).
17. Shaish A., Avron M., Ben-Amotz A. Effect of inhibitors on the formation of stereoisomers in the biosynthesis of  $\beta$ -carotene in *Dunaliella bardawil* // *Plant and Cell Physiology*. 1990. V. 31. No. 5. P. 689–696. doi: 10.1093/oxfordjournals.pcp.a077964
18. Belyanin V.N., Sidko F.Ya., Trenkenshu A.P. Energy of photosynthetic microalgae culture. Moskva: Nauka, 1980. 134 p. (in Russian).
19. Terskov I.A., Trenkenshu R.P., Belyanin V.N. Light-dependent growth of *Platymonas viridis* algae in continuous culture // *Izv. SO AN SSSR (Ser. biol.)*. 1979. V. 10. No. 2. P. 103–108 (in Russian).
20. Kleshnin A.F. Plants and light. Moskva: Izd-vo Akademii Nauk SSSR, 1954. 459 p. (in Russian).
21. Ayzenberg Yu.B. The reference book on light engineering. Moskva: Energoatomizdat, 1983. 472 p. (in Russian).
22. Gatenby C.M., Orcutt D.M., Kreeger D.A., Parker B.C., Jones V.A., Neves R.J. Biochemical composition of three algal species proposed as food for captive freshwater mussels // *J. Appl. Phycol.* 2003. V. 15. P. 1–11. doi: 10.1023/A:1022929423011
23. Benavides A.M.S., Ranglová K., Malapascua J.R., Masojidek J., Torzillo G. Diurnal changes of photosynthesis and growth of *Arthrospira platensis* cultured in a thin-layer cascade and an open pond // *Algal Research*. 2017. V. 28. P. 48–56. doi: 10.1016/j.algal.2017.10.007