



РЕСПУБЛИКА КАЗАХСТАН

(19) **KZ** (13) **B** (11) **35004**

(51) *C12N 1/12* (2006.01)

C02F 3/32 (2006.01)

C12R 1/89 (2006.01)

МИНИСТЕРСТВО ЮСТИЦИИ РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21) 2020/0148.1

(22) 02.03.2020

(45) 16.04.2021, бюл. №15

(72) Голодова Ирина Викторовна (KZ); Васильев Николай Викторович (KZ); Солдатова Валентина Александровна (KZ); Рейбант Александр Иванович (RU)

(73) Товарищество с ограниченной ответственностью «Научно-технологический центр воды» (KZ)

(56) KZ 25373 B, 20.12.2011

RU 2005777 C1, 15.01.1994

RU 2192459 C1, 10.11.2002

JP 57144976 A, 07.09.1982

(54) **ПЛАНКТОННЫЙ ШТАММ
ОДНОКЛЕТОЧНОЙ ЗЕЛЁНОЙ ВОДОРОСЛИ**

**CHLORELLA VULGARIS SKO
СПЕЦИАЛИЗИРОВАННЫЙ ДЛ
ПОЛУЧЕНИЯ БИОМАССЫ**

(57) Изобретение относится к биотехнологии, экологии и сельскому хозяйству. Планктонный штамм одноклеточной зелёной водоросли *Chlorella vulgaris* SKO обладает высокой степенью биопродуктивности. Штамм *Chlorella vulgaris* SKO депонирован в Республиканскую коллекцию микроорганизмов (РКМ) Министерства образования и науки РК под регистрационным номером А РКМ - 0870 может быть использован в получении суспензии, используемой в качестве биодобавки для крупнорогатого скота, свиней, птиц, растений, а также для реабилитации и очистки водоёмов.

(19) KZ (13) B (11) 35004

Изобретение относится к биотехнологии, экологии и сельскому хозяйству. Представляет собой новый штамм одноклеточной зелёной водоросли *Chlorella vulgaris* SKO, предназначенный для получения суспензии, используемой в качестве биодобавки для крупнорогатого скота, свиней, птиц, растений, а также для реабилитации и очистки водоёмов.

Известен штамм одноклеточной зелёной водоросли *Chlorella vulgaris* ИФР N C-111, штамм обладает высокой степенью биопродуктивности (Богданов Н.И., Куницын М.В, патент SU 1751981). Данный штамм *Chlorella vulgaris* ИФР № C-111 имеет ряд недостатков, так как для нормальной жизнедеятельности температурный диапазон колеблется в пределах 25-36°C, что не даёт возможности использовать этот штамм для очистки водоёмов.

Известен термофильный штамм водоросли *Chlorella vulgaris* (М.Н. Овсянникова, М.К.Бородин, Г.С. Скотникова, Я.В.Семенов, Ш.Т.Мадазимов, патент RU2005777C1), обладающий более высоким температурным оптимумом, около 42°C. Данный штамм в связи со своей термофильностью, не применим в условиях средних широт, при понижении температуры до 25°C продуктивность его сначала снижается, а затем прирост биомассы прекращается и наступает гибель клеток.

Штамм *Chlorella kessleri* ИПА C-112 (Держинская И.С., Сопрунова О.Б., Воробьева В.А., Амину Р.А., патент RU 2064454) применяется для обработки сточных вод с целью формирования альгоценоза. Биомасса альгоценоза используется в качестве кормовой продукции для сельскохозяйственных животных. Недостатком данного штамма является узкий спектр очистки вод.

Целью изобретения было выделить штамм *Chlorella vulgaris*, не требовательный к питательной среде, а также обладающий устойчивостью к перепадам температуры и имеющий более высокую биопродуктивность.

Описание изобретения.

Сущность изобретения заключается в том, что для достижения цели был использован аборигенный штамм *Chlorella vulgaris*, обитающий в рыбохозяйственном водоёме СКО, на основе данного штамма путём селекции был выделен новый штамм *Chlorella vulgaris* SKO. Штамм *Chlorella vulgaris* SKO выведен на сточных водах канализационных стоков г. Петропавловска (население 250 000 человек) из озера накопителя «Поганка». Выращивание производилось в сконструированных авторами биореакторах. Биореактор представляет собой герметичный

параллелепипед с автоматической регулировкой температуры, уровня pH и освещённости. Освещение производилось с помощью светодиодов красного, синего, жёлтого и зелёного цвета. Сочетание данных спектров освещения позволяет в полной мере раскрыть потенциал роста водорослей. В начале роста водорослям, так же, как и обычным растениям, необходим синий спектр света, в последующем происходит использование красного спектра, а со временем красный спектр преобладает над синим. Также необходим жёлто - зелёный спектр, что было учтено при выращивании нового штамма. Световой режим соблюдался с учётом световой и темновой фазы. Барботаж осуществлялся атмосферным воздухом только в световую фазу с периодичностью в 30 минут (схема биореактора предоставлена отдельно).

Выращивание производилось в трёх биореакторах. В первом биореакторе содержалась контрольная группа. Для её выращивания использовалась следующая схема питания, подачи света и температурный режим:

Состав питательной среды:

1. Аммиачная селитра 0,1 -0,2 г;
2. Аммофос 15% раствор 0,1-0,15 мл;
3. Железо хлорид 1% раствор 0,15-0,17 мл;
4. Кобальт азотнокислый 0,01%раствор 0,5-0,6 мл;
5. Медь сернокислая 0,01% раствор 0,5-0,7 мл;
6. Сернокислый калий 12% раствор 0,33-0,39 мл;
7. Водопроводная вода 1000 мл

Температурный режим составлял в среднем 28°C.

В темновую фазу допускалось понижение на 3-4°C. Культуральная плотность клеток составила 50-60 млн /мл.

Во втором биореакторе содержалась опытная группа №1. В данной группе менялся состав питательной среды и температурный режим. В качестве питательной среды использовалась вытяжка из куриного помета. Температура понижалась до 21-22°C. Культуральная плотность клеток составила 55 млн/мл. С понижением температуры замедлялся прирост биомассы.

В третьем биореакторе содержалась опытная группа №2. Данная группа выращивалась на сточных водах канализационных стоков г.Петропавловска. Температурный режим составлял 21-22°C. Культуральная плотность клеток составила 62 млн/мл. Полный цикл культивирования составил 4 суток. Производился селекционный отбор клеток, наиболее соответствующих заданным параметрам. Отобранные клетки использовались в качестве материнской культуры. Подсчёт клеток проводили каждый день в течении 8 недель (таблица 1)

Таблица 1

Культуральная плотность клеток

Цикл культивирования	Количество клеток
1	50 млн/мл
2	50,9 млн/мл

3	51,4 млн/мл
4	52 млн/мл
5	53 млн/мл
6	53,6 млн/мл
7	55 млн/мл
8	56,4 млн/мл,
9	57 млн/мл
10	58 млн/мл
11	59 млн/мл
12	60 млн/мл
13	61 млн/мл
14	62 млн/мл

В результате селекции был отобран штамм, отличающийся высокими показателями производства биомассы, устойчивостью к понижению температуры, с высокой резистентностью к бактериям и грибкам, обладающий планктонными свойствами, а также большим содержанием белка (фото культуры предоставлено отдельно)

Морфологические признаки:

Клетки шаровидной формы, тёмно-зелёного цвета, диаметром 7-9 мкм. Оболочка клеток тонкая. Хроматофор чашевидный (широкопоясковидный незамкнутый). Автоспор образуется от 8 до 16.

Физиологические признаки:

Штамм планктонный, характеризуется быстрой скоростью роста и биопродуктивностью. Тип питания фототрофный. Растёт на сточных водах, а также на питательной среде.

Состав питательной среды:

1. Аммиачная селитра 0,1 -0,2 г;
2. Аммофос 15% раствор 0,1-0,15 мл;
3. Железо хлорид 1% раствор 0,15-0,17 мл;
4. Кобальт азотнокислый 0,01%раствор 0,5-0,6 мл;
5. Медь серноокислая 0,01% раствор 0,5-0,7 мл;
6. Серноокислый калий12% раствор 0,33-0,39 мл;
7. Водопроводная вода 1000 мл

Оптимальная температура роста 16 - 22°C. Максимальная 36-38°C. Кратковременно допускается повышение температуры до 45°C.

Суточный режим освещения состоит из двух фаз - световой и темновой. Световая фаза длится 18 часов. Темновая фаза 6 часов. Освещение осуществляется с помощью полноспектральных светодиодов, естественного освещения и так же допускается использование ламп ДНАТ. В период темновой фазы освещение не происходит.

Культуральные свойства.

Культура обладает высокой бактерицидностью, энергетической ценностью, а также большим содержанием белка и витаминов. Данные особенности культуры позволяют использовать её в качестве биодобавки к кормам сельскохозяйственных животных, птиц, в растениеводстве, а также для реабилитации и очистки водоёмов.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

Планктонный штамм *Chlorella vulgaris* SKO депонирован в РГП «Республиканская коллекция микроорганизмов» Комитета науки Министерства образования и науки РК под регистрационным номером А РКМ — 0870, предназначенный для получения биомассы, использующейся в качестве биодобавки для крупнорогатого скота, свиней, птиц, растений, а также для реабилитации и очистки водоёмов.

Схема биореактора

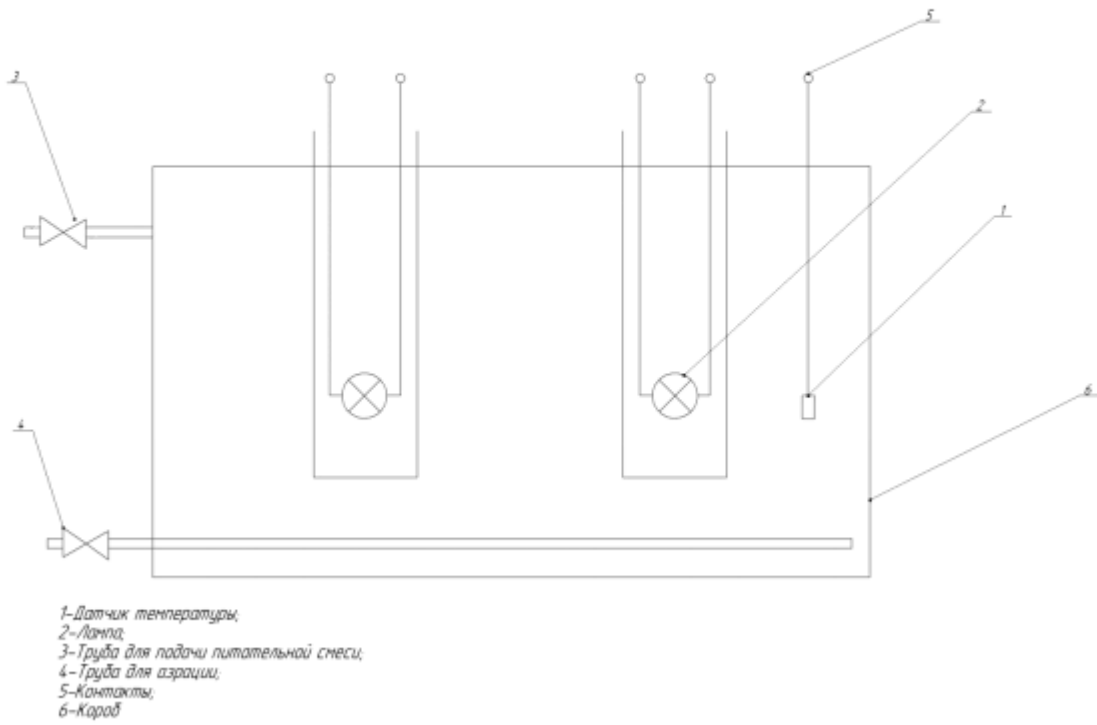
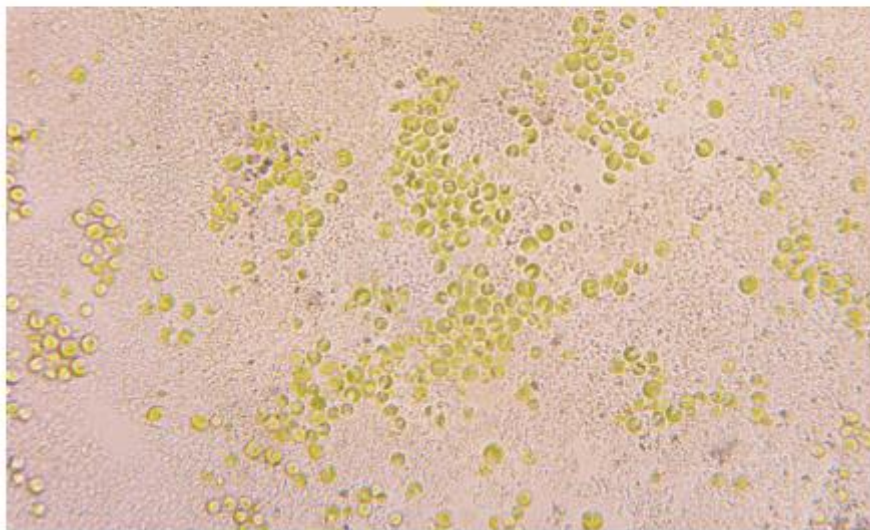


Фото культуры Chlorella vulgaris SKO



Верстка Ф. Сопакова
Корректор Г. Косанова