әл-Фараби атындағы Қазақ ұлттық университеті.
Биология және биотехнология факультеті
Биотехнология кафедрасы

«Фототрофты микроорганизмдер» пәні

Дәріс №9

Фототрофты микроорганизмдерді өсіру тәсілдері. Микробалдырларды өсіруге арналған зертханалық қондырғылар

Дәріскер: б.ғ.к., доцент Кирбаева Д.К.

Жоспар

- Кіріспе
- 1. Өсу қоректік ортасына қойылатын талаптар
- 1.1 Пурпурлы бактерияларды өсіру тәсілдері
- 1.2 Микробалдырларды өсіру ерекшеліктері
- 2. Ашық және жабық типті фотобиореакторлар
- 3. Фототрофты микроорганизмдерді өсіруде туындайтын қиындықтар
- 4. Микробалдырлар биомассасының өсуіне әсер ететін факторлар
- 5. Микробалдырларды зертханалық жағдайда өсіру
- Қорытынды
- Бақылау сұрақтары

Кіріспе

- *Фототрофты микроорганизмдер* — жарық энергиясын пайдаланып органикалық немесе бейорганикалық қосылыстарды синтездейтін тірі организмдер. Оларға цианобактериялар, жасыл және қызыл балдырлар, фототрофты бактериялар жатады. Олардың құрылымынан өнідірістік деңгейде – биомасса, ақуыз, пигменттер мен липидтер және оттек алу мүмкіншіліктері кең.

Өсірудің негізгі принциптері

- Фототрофтар энергия көзі ретінде жарықты, ал көміртек көзі ретінде көмірқышқыл газын (CO_2) немесе органикалық қосылыстарды пайдаланады. Өсіру ортасы мен жағдайлары олардың өсу жылдамдығы мен өнімділігіне айтарлықтай әсер етеді.

Өсіру техникалары

- Ашық жүйелерде - тоғандар мен бассейндерде де, жабық жүйелерде де фотосинтетикалық микроорганизмдерді өсіруге арналған әртүрлі жүйелер бар - әртүрлі дизайндағы фотобиореакторлар.
- Құбырлы, цилиндрлік және панельдік конструкциясы бар реакторлар ең көп таралған.
- Жабық жүйелердің негізгі артықшылықтарының ішінде келесі ерекшеліктерді атап өткен жөн: ластанудың төмен ықтималдығы, технологиялық параметрлерді автоматтандыру мен бақылаудың кең мүмкіндіктері, биомассаның жоғары өнімділігі.

Өсу қоректік ортасына қойылатын талаптар

- Өсіру ортасы мынандай талаптарға сай болуы керек:
- қоректік заттарға бай болуы;
- сутегі иондарының оңтайлы концентрациясына (pH) ие болуы;
- буферлік қасиетке ие болуы, яғни алмасу өнімдерін бейтараптандыратын заттарды қамтуы;
- микроб жасушасы үшін изотонды болуы, яғни ортадағы осмостық қысым жасуша ішіндегі қысыммен тең болуы;стерильді болуы;
- тығыз орталар ылғалды және микроорганизмдерге қолайлы консистенцияда болуы;
- белгілі бір тотығу-тотықсыздану потенциалына ие болуы;
- біркелкі (унификацияланған) болуы, яғни әрбір компоненттің мөлшері тұрақты болуы;
- мөлдір болуы.

Қошқыл (пурпурлы) бактерияларды өсіру тәсілдері

1. Жалпы сипаттама

Пурпурлы бактериялар — бұл **аноксигенді фототрофты микроорганизмдер**, яғни олар фотосинтез процесін **оттексіз жағдайда** жүргізеді.

Энергия көзі ретінде **жарықты**, ал электрон мен көміртек көзі ретінде **бейорганикалық немесе органикалық қосылыстарды** пайдаланады.

Негізгі өкілдері: *Rhodospirillum*, *Rhodobacter*, *Rhodopseudomonas*, *Chromatium* және т.б.



3. Өсіру тәсілдері

а) Анаэробты фототрофты жағдайларда

•Ең тиімді әдіс — **жабық, жарық түсетін анаэробты жүйелерде өсіру**.

•Қоректік орта оттексіздендіріліп, үсті тығыз жабылады.

•Жарық көзі ретінде шамамен 2000–5000 люкс деңгейінде жарық қолданылады.

б) Мерзімді (периодты) культивация

•Бактериялар қоректік ортада белгілі бір уақыт өсіріліп, кейін биомасса жиналады.

•Бұл әдіс зертханалық зерттеулерде жиі пайдаланылады.

в) Үздіксіз культивация

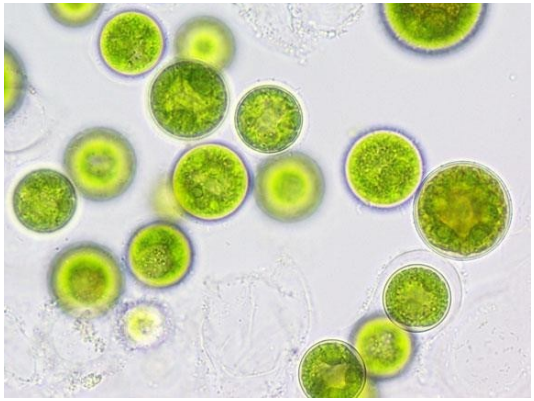
•Арнайы фотобиореакторларда қоректік орта үздіксіз жаңартылып отырады.

•Бұл әдіс өндірістік мақсатта (мысалы, биопигменттер, сутек немесе биомасса алу үшін) қолданылады.

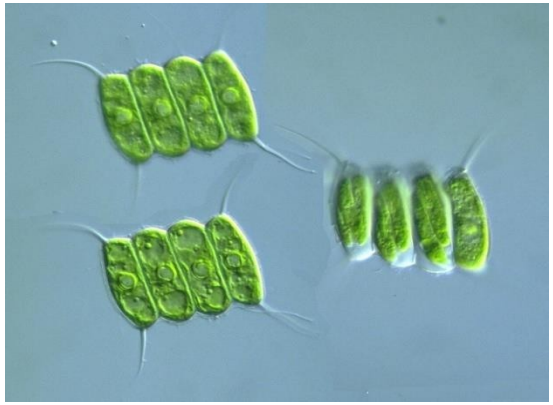
Микробалдырларды өсіру ерекшеліктері

Микробалдырлардың биомассасын қолдану аясының кеңеюіне байланысты, оларды көптеп өсіру, қоректік орталарын модификациялау м.мкіншіліктері жоғарылауда. Оларды өсіру салыстырмалы түрде оңай – олар тазартылған да, ағынды суда да өсіп, қоректік заттарды жеңіл сіңіре алады. Балдырлар өздерін фотосинтез процесі арқылы көбейтеді және өсу сатыларының барлығын қысқа уақыт ішінде аяқтайды.

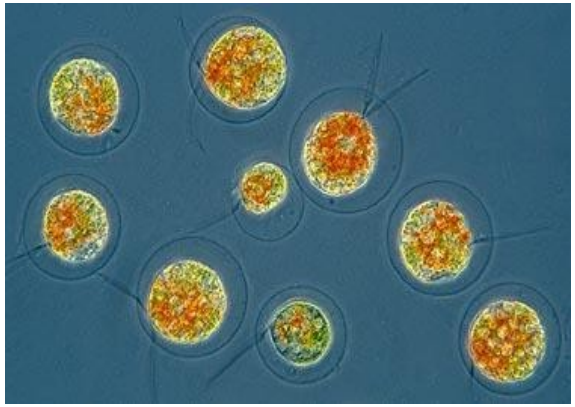
Микробалдырлар қазіргі таңда өнеркәсіптің әртүрлі салаларында – фармацевтикада, косметологияда, сондай-ақ қоршаған ортаны ластаудың алдын алу және биоотын өндіру мақсатында кеңінен қолданылады.



Chlorella



Scenedesmus



Chlamydomonas

Микробалдырларды өсіріп көбейту келесі тәсілдермен жүргізіледі:

- **Қатты** немесе **сұйық** қоректік орталарда;
- **беттік** немесе **терең** әдіспен;
- **мерзімді** немесе **үздіксіз** әдіспен;
- **аэробты** немесе **анаэробты** жағдайларда.

•Өсіру әдісі культивацияның соңғы **мақсатына** байланысты таңдалады:

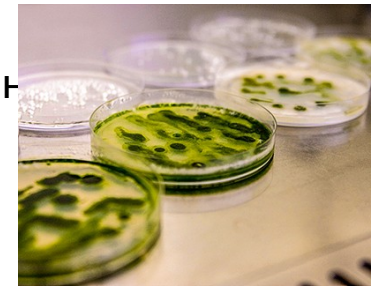
- биомассаны жинақтау;
- микроорганизмнің тіршілік өнімін (метаболитін) алу.

•*Өсіру жүйелерінің түрлері*

•Фототрофты микроорганизмдерді өсіру жүйелерін екі үлкен топқа бөлуге болады:

•Ашық жүйелер;

•Жабық жүйелер (фотобиореакторлар).





Қатты немесе сұйық қоректік орталарда;

Сөрелер мен стеллаждар біркелкі жарықтандыру мен температураны бақылауды қамтамасыз етіп, қолжетімді болуы тиіс. Әртүрлі дақылдар арнайы сынақтық стеллаждарда бірге сақталады. Сөрелер әдетте әйнектен немесе металдан жасалады, өйткені оларды стерилизациялауға оңай. Ең тиімді нұсқа — металл тордан жасалған сөрелер, себебі олар ауа айналымын жақсы қамтамасыз етеді. Жарық көздері сөрелердің үстіне немесе жанына орналастырылуы керек, бұл шамадан тыс қызуды болдырмайды.



Микробалдырларды өсіру бөлмесі

Ашық және жабық типті фотобиореакторлар

1. Ашық типті фотобиореакторлар

- Бұл жүйелер қоршаған ортамен тікелей байланыста болады.

Негізгі түрлері:

- Жазық бассейндер (канальды прудар): Төмен тереңдіктегі (20-30 см) бетон немесе пластик бассейндер. Суспензия араласқыш пен CO_2 беру жүйесімен қозғалыста болады.
- Айналмалы ағынды бетон немесе пластикті: Айналмалы ағынмен жабдықталған эллипс тәрізді бассейндер.

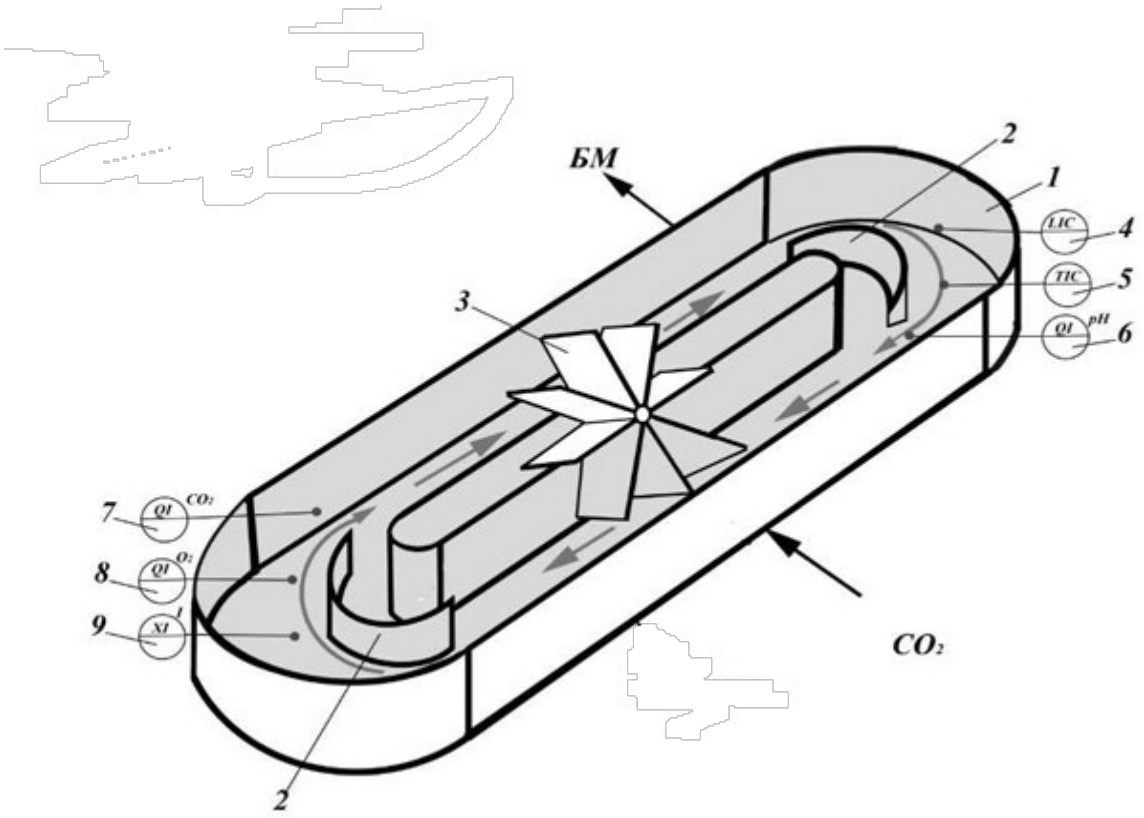
Артықшылықтары:

- Құрылыс және пайдалану қарапайым және салыстырмалы түрде арзан.
- Кең аумақта өндіруге мүмкіндік береді.
- Энергия шығыны төмен.

Кемшіліктері:

- Сыртқы ластануға бейім: бөгде балдырлар, бактериялар, зиянкестер.
- Жағымсыз ауа-райы әсері: төмен температура, жаңбыр, тозаң.
- Булану жоғары.
- Өндірістік параметрлерді басқару қиын (температура, жарықтандыру).
- CO_2-ті тиімді пайдалану мүмкіндігі шектеулі.
- Негізгі қолданылу аясы: Үлкен көлемдегі төзімді түрлерді (мысалы, *Spirulina, Dunaliella*) өсіру.

Арна жүйесі бар ашық фотобиореактор



- 1-корпус; 2-бөлімдер; 3-қалақша дөңгелегі; 4-деңгей сенсоры;
- 5-температура сенсоры; 6-pH сенсоры; 7 - еріген CO2 сенсоры;
- 8 - еріген O2 сенсоры; 9-жарық сенсоры

2. Жабық типті фотобиореакторлар

- **Мысалдар:** түтікшелі, пластинкалы, бағаналы жүйелер.
  Ерекшеліктері:
- Жарық, температура, pH, газ алмасу сияқты параметрлер қатаң бақыланады.
- Стерильді ортада өсіру мүмкіндігі бар.
- Биомассаның өнімділігі жоғары.
- **Кемшіліктері:**
  - Құрылымы күрделі және қымбат.
  - Энергия шығыны көп (жарықтандыру, аэрация, араластыру).



Жабық спиральды фотобиореактор

Негізгі бөліктері:

1.Мөлдір түтікшелер (реакциялық аймақ) – микробалдырлар культурасы осы түтікшелер ішінде айналып жүреді; жарық түсуі үшін мөлдір материалдан жасалады (әдетте шыны немесе ПВХ).

2.Циркуляциялық сорғы (насос) – культураның үздіксіз қозғалысын қамтамасыз етеді, осылайша барлық жасушалар біркелкі жарық алады.

3.Газ беру жүйесі (аэрация/CO_2 барботажы) – балдырларға көмірқышқыл газын жеткізеді және оттегінің артық мөлшерін шығарып отырады.

4.Дегазатор (газды бөлу камерасы) – фотосинтез нәтижесінде түзілген оттегіні шығарады.

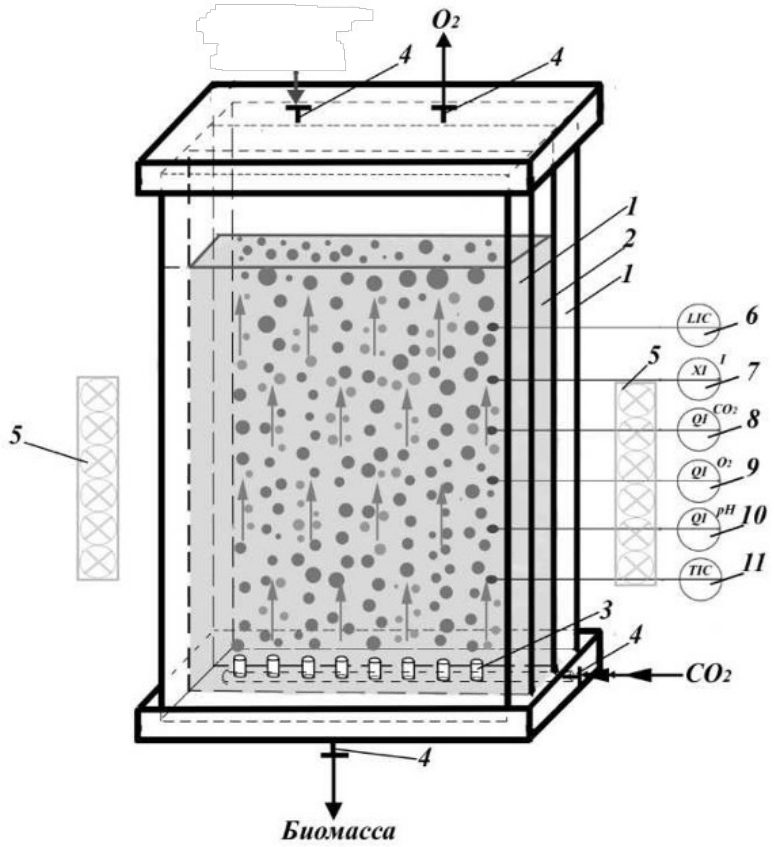
5.Жарық көзі (табиғи немесе жасанды LED шамдар) – фотосинтез процесі үшін энергия көзі.

6.Термореттеу жүйесі (салқындатқыш немесе термостат) – культураның тұрақты температурада болуын қамтамасыз етеді.

7.Қоректік орта резервуары – балдырларға қажетті минералдар мен элементтер қосылады.

8.Бақылау және басқару жүйесі – pH, температура, жарық қарқындылығы, газ мөлшері сияқты параметрлерді автоматты түрде реттейді.

Жалпақ панельді Фотобиореактор:



1-корпус; 2-мөлдір поликарбонат қабаты; 3-көпіршік; 4-фитинг;

- 5-шамдар; 6-деңгей сенсоры; 7-Жарық сенсоры;
- 8 - еріген CO2 сенсоры; 9 - еріген O2 сенсоры;
- 10 – pH сенсоры; 11-температура сенсоры

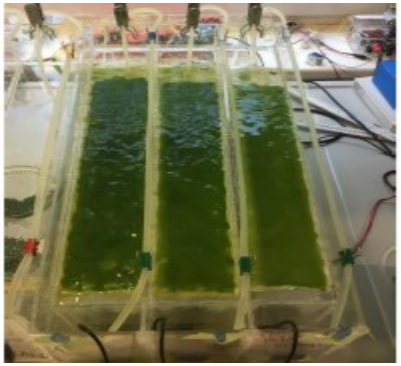
Микробалдырлардан биомасса алу

Әдетте микробалдырларды өсіру стерильді жағдайда және қоршаған ортаның белгілі бір параметрлерін сақтай отырып жүргізіледі.

Микробалдыр *биомассасын* өндіру үдерісі келесі қарапайым схема арқылы сипатталады:

$CO_2 + H_2O$ + қоректік заттар + жарық энергиясы → биомасса + O_2

Ең қарапайым өсіру ыдысы — **шейкерге орналастырылатын колба** болып табылады.
Ең тиімді өсіру жүйелері — **жабық фотобиореакторларда**.
Мұндай фотобиореакторлар **стерильді ортаны қамтамасыз етіп**, дақылдың **pH** деңгейін, **температурасын,** берілетін **газдағы CO_2 концентрациясын, жарықтың** қарқындылығын және басқа да параметрлерді бақылауға мүмкіндік береді.
Бұл өз кезегінде әртүрлі биотехнологиялық өнімдерді алуға кең мүмкіндік береді.



Сурет. 1 -Көлденең жасалған фотобиореактор, табиғатқа ұқсас тиімділік материал



Сурет. 2 – Шейкер

Фотобиореакторлардың түрлері

- **Құбырлы реакторлар**
  - **Көлденең реактор;**
  - **Тік**
  - **Спиральды**

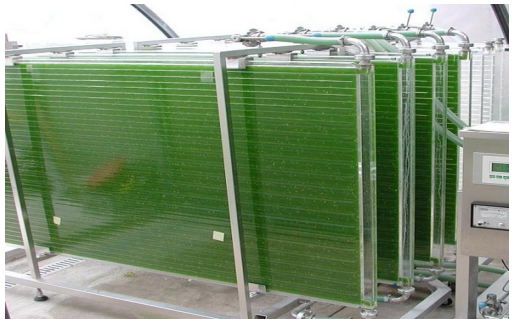
Түтікшелі фотобиореакторларда микробалдырлар дақылы мөлдір түтіктер арқылы орталықтан тепкіш сорғының көмегімен айналып жүреді, ал белгілі бір уақыт аралығында дегазатор арқылы өтіп, онда барботажды ауаның әсерінен жиналған оттегі шығарылып тасталады.

Жұқа қабатты пластинкалы реакторлар

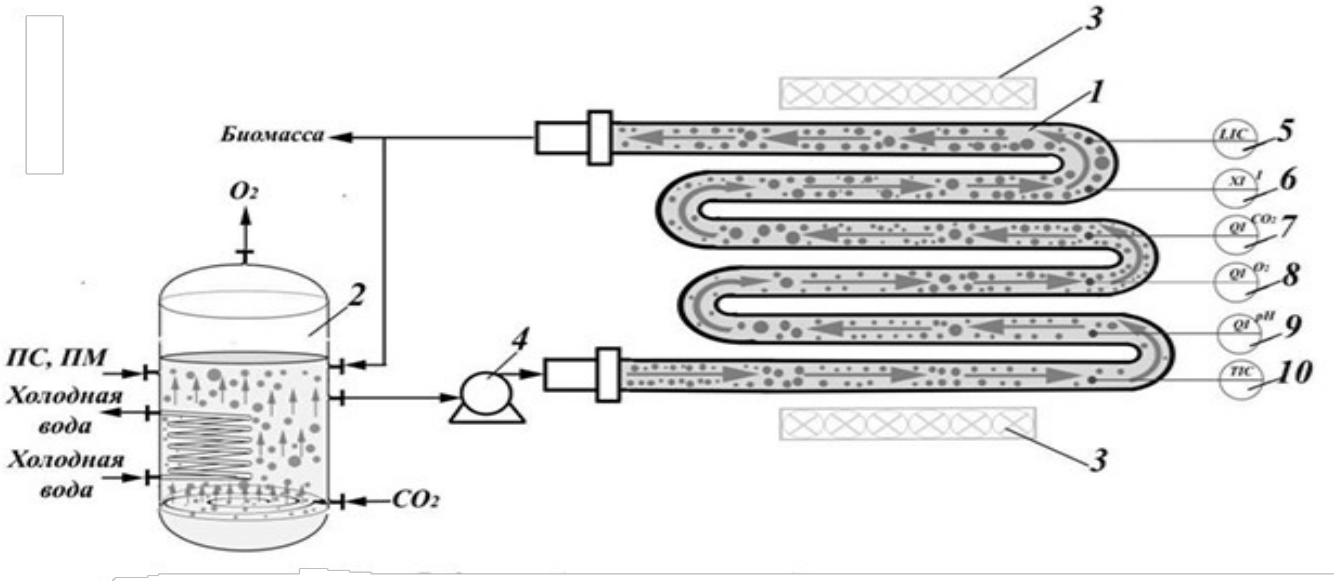
Тік немесе көлденең бағытталған жазық мөлдір ыдыстар, олардың ішінде араластыру барботажды ауаның әсерінен жүзеге асады.

Араластырғышы бар рекатор

Реактор турбина немесе винт түріндегі араластырғышпен жабдықталған тік цилиндрлік ыдыстан тұрады. Параметрлерді бақылау реакторлардың басқа түрлерімен салыстырғанда жоғары деңгейде жүреді. Жарықтандыруды реактордың сыртынан да ішінен де жүзеге асыруға болады.



Құбырлы фотобиореактор:



Сурет: 1, 2-корпустар; 3-шамдар; 4-сорғы; 5-деңгей сенсоры;
6-Жарық сенсоры; 7 - еріген CO2 сенсоры;
8 - еріген O2 сенсоры; 9-pH сенсоры; 10-температура сенсоры

Араластырғышы бар фотобиореакторы



- Осы типтегі фотобиореакторлар бұрын қажетті жарықтандыруды жүзеге асырудың қиындығына байланысты зертханалық масштабта микробалдырларды өсіру үшін ғана қолданылған. Біз ұзын осьте көптеген роторларды орнатуға мүмкіндік беретін түпнұсқа магниттік жетекті құрастырдық.
- Араластырғыштың осы түрін қолдана отырып, үлкен диаметрлері мен биіктігі бар реакторды жобалауға болады.
- Фотобиореакторлардың бұл түрінің артықшылығы аэрацияны/газсыздандыруды жақсарту болып табылады (нәтижесінде жасушалардың жарықпен қамтамасыз етілуі жақсарды) нәтижесінде биомасса шығымы артады.



Фототрофты микроорганизмдерді өсіруде туындайтын қиындықтар

Штаммды таңдау – культивация үшін ең жоғары өнімділікке ие балдыр штаммдарын таңдап, өсіру қажет.

Энергия шығыны – жабық биореакторларда культураны араластыру, жарықтандыру, сумен қамтамасыз ету, аэрация және биомассаны бөліп алу үшін энергия қажет.

Қоректендіру (әсіресе ірі ауқымда) – микробалдырлардың өсуін жақсарту үшін әдетте реактивтер немесе бейорганикалық тыңайтқыштар қолданылады.

CO_2 беру – көмірқышқыл газы электр станциялары немесе химиялық зауыттар сияқты өндіріс көздерінен алынуы мүмкін болғанымен, оны тұрақты түрде жеткізу әдетте қиындық туғызады.

Дегенмен, микробалдырларды өсірудің экономикалық тиімділігіне байланысты көптеген жағдайларда бұл мәселелерді шешу орынды болып табылады

Микробалдырлар биомассасының өсуіне әсер ететін факторлар

- Жарық қарқындылығы;
- Температура;
- Қоректік орта-азот, фосфор және басқа элементтердің концентрациясы;
- Араластыру;
- Аэрация.

Жарық қарқындылығының әсері

Микробалдырлар - энергия көзі ретінде жарықты пайдаланады және сол арқылы протоплазманы синтездейді. Жасушалардың өсу жылдамдығы жарық қарқындылығы қанығу деңгейіне жеткен кезде ең жоғары болады, ал ол деңгейден жоғары немесе төмен болған жағдайда төмендейді.

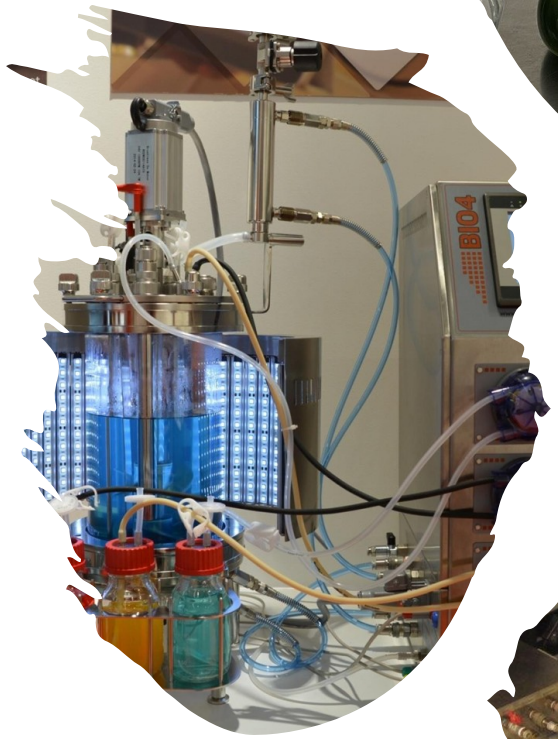
Көптеген балдырлар үшін жарық қарқындылығы қанығу шегінен асып кеткен кезде, хлоропластардағы ламеллалардың өсуінің бұзылуы және CO_2 фиксациясына қатысатын ферменттердің белсенділігінің төмендеуіне байланысты фотоингибиция байқалады.

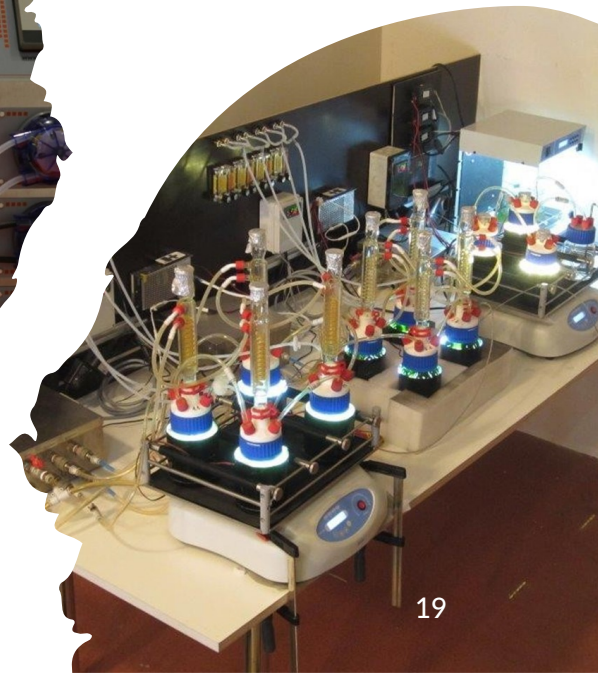
Жарықтың оңтайлы қарқындылығы микробалдырлардың штамына байланысты өзгереді. Мысалы, ***Desmodesmus* sp.** үшін ол шамамен **98 µmol·m^{-2}·s^{-1}**, ал ***Dunaliella viridis*** үшін **700 µmol·m^{-2}·s^{-1}** құрайды.

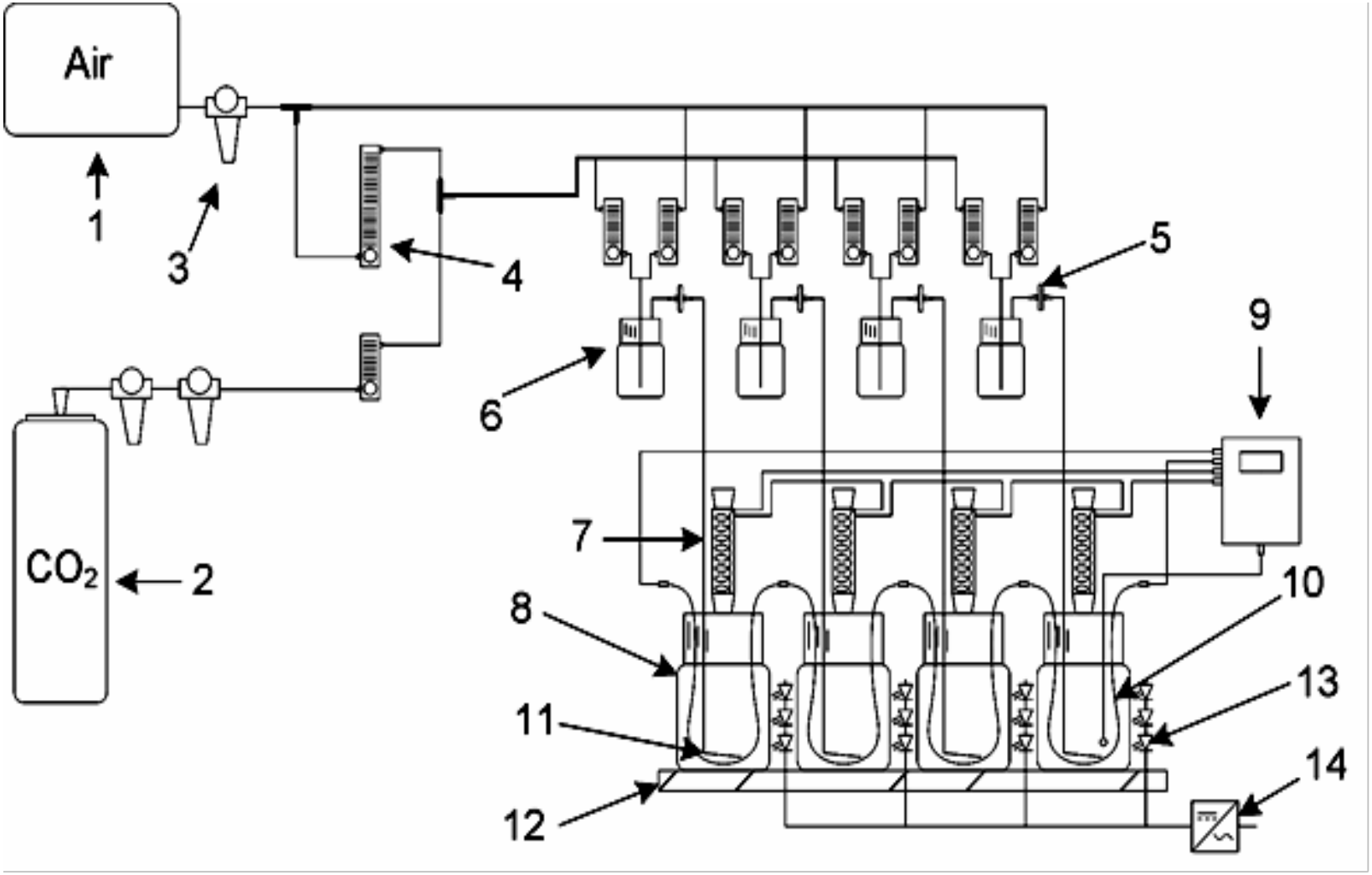
Микробалдырларды зертханалық жағдайда өсіру

- Қоршаған орта факторларының әсерін зерттеу және тиісті масштабтау жүргізу үшін колбаларда әртүрлі тәжірибелер өткізілді, бұл бір уақытта бірнеше параметрлерді өзгертуге мүмкіндік берді.



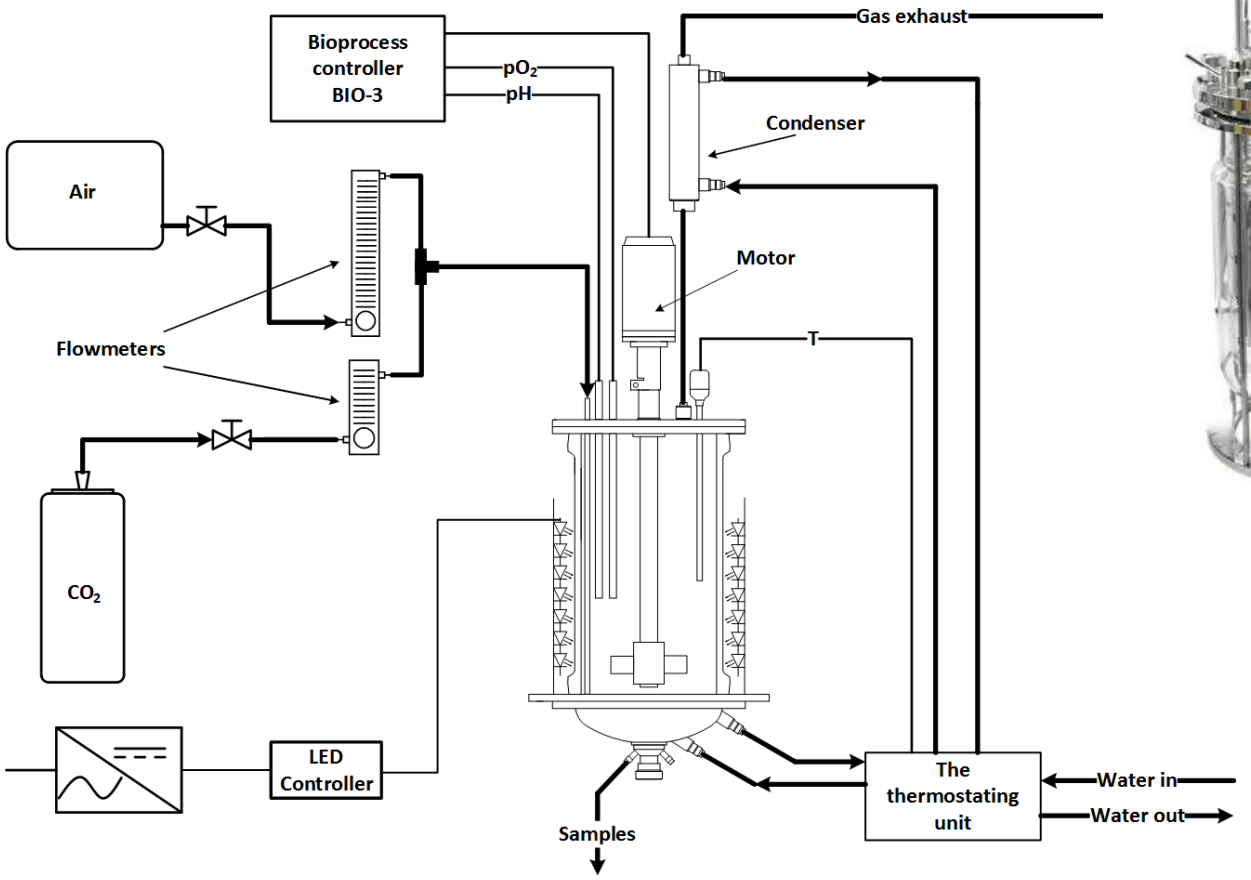






1. Сурет. Эксперименттік қондырғының сызбалық схемасы: 1 – компрессор; 2 – CO_2 баллоны; 3 – редуктор; 4 – шығынөлшегіш (расходомер); 5 – сүзгі; 6 – стерильді су; 7 – тоңазытқыш; 8 – культура; 9 – термостат;10 – термостат түтігі; 11 – барботер; 12 – араластырғыш; 13 – жарық көзі (LED); 14 – қорек көзі (блок питания).

Араластырғыш фотобиореактор зертханалық масштабта





Сурет 3. Фотобиореактор схемасы

- **Бақылау сұрақтары:**

- Қошқыл бактерияларды өсіру тәсілдері қандай?
- Микробалдырларды өсіру әдістері қандай ?
- Өсу қоректік ортасына қойылатын талаптар;
- Өсіру жағдайлары және микробалдырлардың өсуіне әсер ететін факторлар;
- Ашық және жабық жүйелі фотобиореакторлардың ерекшеліктері қандай?
- Өсіру ортасын таңдау неге байланысты?
- Балдырлардың өміршеңдігін сақтау үшін қандай жарық пен температура оңтайлы?

Қорытынды

- Балдырлар мен цианобактерияларды көптеген жерлерде (суда, ағаштардың қабығында, мүктердің арасында, үйлердің қабырғаларында, ылғал тастар мен тастарда, топырақ бетінде, жануарлардың терілерінде және т.б.) кездестіруге болады.
- Күлгін (пурпурлы) бактерияларды қолданылуы
- Биогаз және сутек өндіруде, фотосинтетикалық пигменттер (бактериохлорофилл, каротиноидтар) алу; ағынды суларды тазалауда; ауыр металдарды биосорбциялау; биотыңайтқыштар мен биостимуляторлар алу бағыттарында.
- Фотобиореактор – бұл фотосинтездеуші микроорганизмдерге (мысалы, балдырлар мен кейбір бактерияларға) биомассаны тиімді өндіруге арналған бақыланатын ортаны қамтамасыз ететін ерекше типтегі биореактор. Бұл микроорганизмдер жарық энергиясын пайдалана отырып, көмірқышқыл газын және суды органикалық заттарға айналдырады және сонымен қатар оттегіні бөледі.
- Фотобиореактордың құрылысы - жарық энергиясын барынша тиімді пайдалану мен өсу ортасындағы әртүрлі параметрлерді — температураны, pH мәнін, жарық қарқындылығын, фотопериодты, қоректік заттардың берілуін және т.б. - реттеуге бағытталған.

Ұсынылатын әдебиеттер

- 1. Заядан Б.К., Фототрофты микроорганизмдер биотехнологиясы.– Павлодар, «Brand print», 2010. – 432 б.
- 2. Заядан Б.К., Акмуханова Н.Р., Садвакасова А.К., Коллекцтя микроводорослей и методы их культивирования. – Алматы, «Қазақ университеті», 2013. – 158 с.
- 3. Carvalho A.P., Meireles L.A., Malcata F.X. Microalgal reactors: a review of enclosed system design and performances. Biotechnology Progress. 2006, 22, 1490-1506.
- 4. Гайсина Л.А., Фазлутдинова А.И., Кабиров Р.Р. Современные методы выделения и культивирования водорослей: учебное пособие [Текст]. – Уфа: Изд-во БГПУ, 2008. – 152с.
- 5. Duque, J.R. Hydrodynamic computational evaluation in solar tubular photobioreactors bends / J. R. Duque – CT&F Ciencia: Tecnologia y Futuro, 2011. – 72 p.
- https://ru.sinotechmachinery.com/products/photobioreactor/

НАЗАРЛАРЫҢЫЗҒА РАХМЕТ!