

СТАТЬИ

УДК 628.9:608.4:58.084.1

**РАЗРАБОТКА СПЕЦИАЛИЗИРОВАННОГО ИСТОЧНИКА ИЗЛУЧЕНИЯ
ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ МИКРОВОДОРОСЛИ ХЛОРЕЛЛЫ
В ЛАБОРАТОРНЫХ УСЛОВИЯХ****¹Бурдышева О.В., ¹Шолгин Е.С., ²Фазилова А.Д., ²Баяндин Д.В.***¹Пермский федеральный исследовательский центр Уральского отделения
Российской академии наук, Пермь, e-mail: burdyshevaolga@gmail.com;**²ФГАОУ ВО «Пермский национальный исследовательский политехнический университет»,
Пермь, e-mail: baya260861@yandex.ru*

Ряд перспективных биотехнологий, имеющих многочисленные и разнообразные применения, основан на выращивании в искусственных условиях микроводоросли хлореллы. Одним из важнейших условий роста водоросли является создание освещения с определенными интенсивностью и спектральным составом. Применяемые в промышленных целях устройства для культивирования хлореллы, фотобиореакторы, ориентированы на получение больших объемов биомассы. Соответственно, они не пригодны для проведения лабораторных экспериментов, для которых характерно использование нескольких малообъемных образцов, отличающихся создаваемыми в них условиями развития культуры (например, составом питательной среды). Для сопоставления результатов, получаемых при изменении одного из факторов, необходима фиксация прочих факторов, в числе которых – освещенность образцов. Приспособление для исследовательских целей выпускаемых промышленностью светильников различного типа обычно имеет своим недостатком неоднородность освещенности рабочей области экспериментальной установки. Этот фактор снижает валидность результатов опытов, затрудняет их интерпретацию и воспроизводимость. В данной статье представлена разработка специализированного LED-источника излучения для выращивания микроводорослей хлореллы в лабораторных условиях, позволяющего увеличить воспроизводимость результатов эксперимента посредством создания равномерной освещенности опытных образцов. Приведены приближенный аналитический и численный расчеты освещенности рабочей области, показана высокая степень однородности создаваемой в экспериментальной установке освещенности. Реализованный светильник используется в экспериментах лаборатории экологии и иммунологии Института экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН.

Ключевые слова: искусственное освещение, микроводоросль хлорелла, специализированные источники излучения, равномерность освещенности

**DEVELOPMENT OF A SPECIALIZED RADIATION SOURCE
FOR CULTIVATION OF CHLORELLA MICROALGAE
IN LABORATORY CONDITIONS****¹Burdysheva O.V., ¹Sholgin E.S., ²Fazilova A.D., ²Bayandin D.V.***¹Perm Federal Research Center of Ural Branch of Russian Academy of Sciences, Perm,
e-mail: burdyshevaolga@gmail.com;**²Perm National Research Polytechnic University, Perm, e-mail: baya260861@yandex.ru*

A number of promising biotechnologies with numerous and diverse applications are based on the cultivation of chlorella microalgae in artificial conditions. One of the most important conditions for the growth of algae is the creation of illumination with a specific intensity and spectral composition. Photobioreactors, devices for cultivating chlorella for industrial purposes are focused on obtaining large amounts of biomass. Accordingly, they are not suitable for laboratory experiments, which are characterized by the use of several small-volume samples that differ in the conditions of culture development created in them (for example, the composition of the nutrient medium). To compare the results obtained by changing one of the factors, it is necessary to fix other factors, including the illumination of the samples. Adaptation of various types of industrially produced lamps for research purposes usually has the disadvantage of the non-uniformity of illumination of the working area of the experimental setup. This factor reduces the validity of the experimental results and complicates their interpretation and reproducibility. The paper presents the development of a specialized LED radiation source for growing chlorella microalgae in laboratory conditions which allow for increasing the reproducibility of the experimental results by creating a uniform illumination of the test samples. An approximate analytical and numerical calculation of the illumination of the working area is presented. A high degree of uniformity of the illumination created in the experimental setup is shown. The developed lamp is used in the experiments of the Laboratory of Ecology and Immunology of the Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms, Ural Branch of the Russian Academy of Sciences.

Keywords: artificial lighting, chlorella microalgae, specialized radiation sources, illumination uniformity

Микроводоросль хлорелла нашла применение во многих областях деятельности человека: в сельском хозяйстве в качестве добавки к корму для скота, в пищевой промышленности, в медицине в виде биоло-

гически активных добавок, в фармацевтической промышленности и косметологии; помимо этого, хлорелла применяется в энергетической отрасли при производстве биотоплива [1–3].

Для выращивания микроводорослей в искусственных условиях применяются специальные установки, называемые культиваторами или фотобиореакторами. Известно большое количество устройств для культивирования хлореллы [4–6]. Поскольку одним из важнейших условий роста водоросли является создание освещения с определенными интенсивностью и спектральным составом, в состав конструкции фотобиореактора входят специализированные источники излучения. Большинство фотобиореакторов не подходят для проведения исследовательских работ, так как ориентированы на производство большого объема биомассы и не позволяют проводить эксперименты со значительными выборками малых объемов с термостатированием. Такие установки громоздки, дорогостоящи, а потому непригодны для лабораторных опытов.

Эксперименты по культивированию микроводорослей в малых объемах проводятся с пробирками, планшетами или колбами, их освещение реализуется, как правило, люминесцентными, дуговыми натриевыми лампами или светодиодными светильниками.

Как правило, источник света для выращивания располагают между рядами колб или над ними. Эти варианты просты в реализации, но не могут обеспечить равномерное освещение всех образцов, что сказывается на надежности и воспроизводимости результатов.

Цель представляемой работы – конструирование и реализация светильника для выращивания микроводорослей хлореллы в лабораторных условиях, обеспечивающего однородность освещенности рабочей области экспериментальной установки, что способствует повышению валидности результатов опытов.

Материалы и методы исследования

Рассмотрим основные требования, предъявляемые к источнику излучения для культивирования микроводорослей в лабораторных условиях.

Для выращивания хлореллы необходимы шейкер и термостат. При культивировании биомассы важно, чтобы температура среды, в которой находятся микроводоросли, была оптимальной для используемого штамма. Данное оборудование накладывает ряд массогабаритных ограничений на разрабатываемый светильник.

В лабораторных опытах заказчика выращивание водоросли производится в двух типах емкостей: склянках или 24-луночных полистироловых планшетах. Размер светильника не должен превышать габариты 340 x 220 x 50 мм, а также светильник с пробями хлореллы не должен превышать допустимую массовую нагрузку на шейкер. При культивировании биомассы микроводорослей важным фактором является освещение – поверхностная облученность, распределение излучения внутри системы, спектральный состав и значения фотосинтетической активной радиации (ФАР). Для хлореллы предпочтителен спектр, приближенный к холодному белому свету. Однородность освещенности необходимо выдерживать в пределах $\pm 5\%$.

Для обеспечения равномерного освещения со значением фотосинтетически активного потока белого света 250 мкмоль/(с·м²), благоприятного для хлореллы, был выбран вариант создания LED светильника. С учетом расположения и компоновки экспериментальных образцов хлореллы, покрывающих площадь шейкера, оптимальным представляется располагать экспериментальные образцы на самом светильнике.

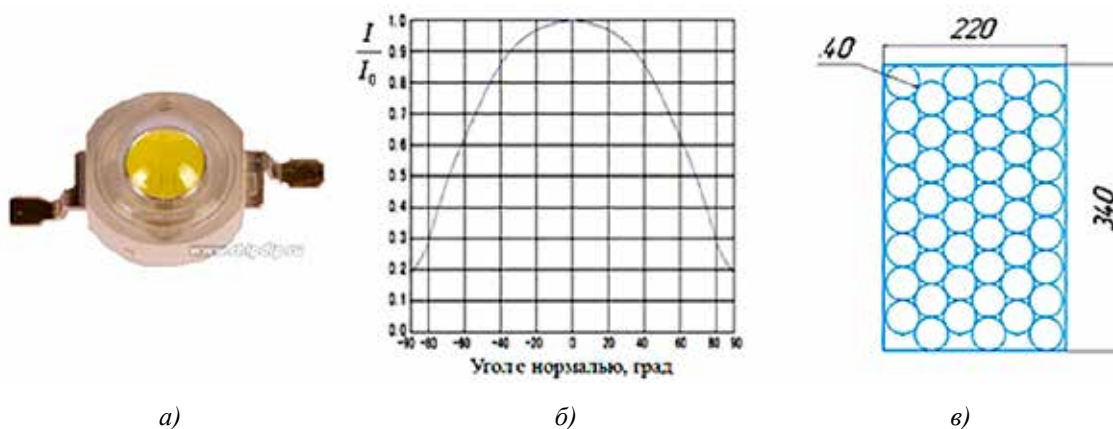


Рис. 1. Светодиоды: а) диоды в оправе; б) график угловой зависимости для относительной интенсивности излучения светодиода; в) расположение диодов на радиаторе



Рис. 2. Внешний вид светильника; светильник в термостате

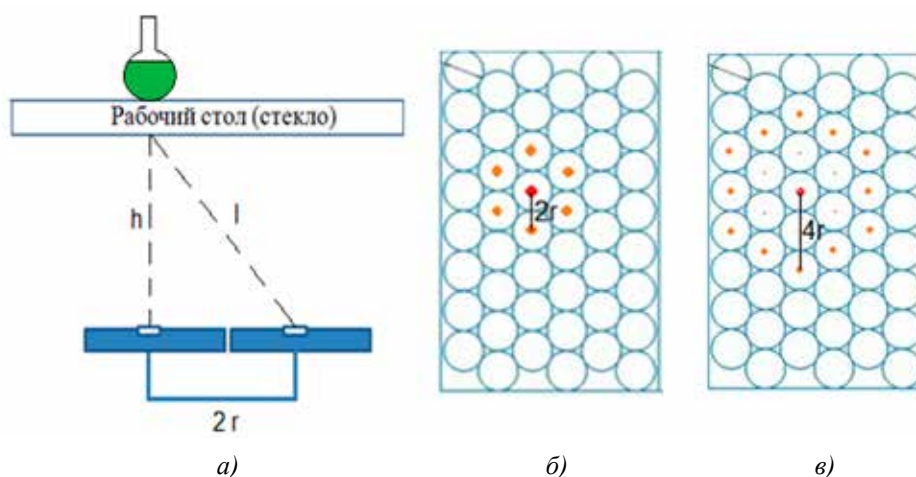


Рис. 3. Расположение диодов для точек первого типа: а) геометрия задачи; б) расположение диодов «соседей 1-го порядка»; в) расположение диодов «соседей 2-го порядка»

Расстояние от источников света до культуры хлореллы составляло около 45 мм. Диоды в светильнике расположены в шахматном порядке (рис. 1, в), размер D диода в оправе составляет 38 мм. Разработанный светильник представлен на рис. 2.

Установка содержит блок питания, регулятор мощности и каскад диодов. За счет блока питания и регулятора мощности возможна регулировка, обеспечивающая на выходе напряжение, которое соответствует заявленным параметрам диодов.

Основной задачей блока питания является снижение переменного напряжения 220 В до требуемой величины и его выпрямление, сглаживание и стабилизация. В нашем излучателе используется импульсный блок питания, иначе называемый инвертором.

Для моделирования равномерного излучения были взяты белые светодиоды (рис. 1, а) мощностью 3W в количестве 48 шт., близкие по световой температуре к необходимому 6000–7000 К и со световым потоком 200 лм. Представленный произво-

дителем светодиодов график распределения интенсивности излучения диода по углу рассеяния (рис. 1, б) показывает, что точки половинной мощности соответствуют углу 70° . Поэтому было принято, что угол рассеяния составляет 140° .

В основе работы инвертора лежит выпрямление первичного напряжения и дальнейшее его преобразование в последовательность импульсов высокой частоты. Выходное напряжение блока служит для формирования сигнала отрицательной обратной связи, что позволяет регулировать параметры импульсов. Управляя шириной импульсов, можно организовать стабилизацию и регулировку выходных параметров, напряжения или тока [7]. Поэтому устройство может играть роль как стабилизатора напряжения, так и стабилизатора тока.

За блоком питания следует регулятор мощности. В нашей работе в этом качестве был использован диммер, управляющий электрической мощностью ламп за счет изменения подводимого к ним напряжения.

Удобство в использовании такого регулятора мощности состоит в возможности настройки яркости, которая требуется заказчику. Тем самым появляется возможность использования светильника для выращивания не только хлореллы, но других микроводорослей и растений.

Результаты исследования и их обсуждение

Описанная реализация светильника призвана обеспечить равномерную освещенность рабочего стола с установленными на нем планшетами или колбами, необходимую для обеспечения достоверности сравнительного анализа результатов выращивания хлореллы в сосудах, расположенных по всей поверхности стола, и воспроизводимости экспериментов.

Для оценки степени однородности освещенности в аналитическом варианте расчета использовали метод последовательных приближений. Выделили три типа расположенных на стекле точек, характерных по своему пространственному положению относительно диодов.

Точки первого типа. Образец находится над центром некоторого диода (рис. 3).

Этот диод освещает точку наблюдения по нормали, а 6 ближайших его соседей («соседей 1-го порядка», рис. 3, б) – под углом, который определяется по формуле

$$\alpha = \arctg\left(\frac{2 \cdot r}{h}\right), \quad (1)$$

где r – радиус диода в оправе, h – расстояние до стекла. Угол, под которым соседние диоды освещают данную точку, равен $40,18^\circ$, что соответствует коэффициенту 85% мощности излучения по нормали. Для 12 диодов – «соседей 2-го порядка» (рис. 3, в) – аналогичный расчет дает угол $59,37^\circ$, что соответствует 62% мощности излучения по нормали.

Угловая зависимость мощности излучения используемых диодов, представленная на рис.1, в, близка к закону, характерному для косинусных источников:

$$I = I_0 \cdot \cos \alpha, \quad (3)$$

где I_0 – сила света по нормали. Полагая приближенно излучаемую волну сферической, используем для расчета освещенности в выбранной точке формулу

$$E = \frac{I}{l^2} \cdot \cos \alpha, \quad (4)$$

где l – расстояние от диодов до точки на стекле, а I – сила света, излучаемая и падающая на стекло под углом α к нормали.

Зависимость (3) удобна при автоматизированном расчете, а в аналитическом расчете использовалась формула

$$I = I_0 \cdot k, \quad (3a)$$

где значения коэффициента угловой зависимости излучаемой мощности k берутся из графика на рис. 1, б. Величина I_0 , соответствующая в установке световому потоку 200 лм, при оценке относительных изменений освещенности сокращается и потому не вычислялась.

Подстановка в (4) формулы (3a), а затем и численных значений параметров установки дает

$$E = I_0 \cdot \frac{k}{l^2} \cdot \cos \alpha. \quad (5)$$

Для автоматизированного расчета используется приближенная формула

$$E = \frac{I_0}{l^2} \cdot \cos^2 \alpha. \quad (5a)$$

Освещенность, которую создают в выбранной точке расположенный строго под ней диод E_0 и его соседи первого и второго порядка E_1 и E_2 , в соответствии с формулой (5) такова:

$$E_0 = I_0 \cdot \frac{k_0}{l_0^2} \cdot \cos \alpha_0 = I_0 \cdot 0,00049, \quad (6)$$

$$E_1 = 6 \cdot I_0 \cdot \frac{k_1}{l_1^2} \cdot \cos \alpha_1 = I_0 \cdot 0,0011, \quad (7)$$

$$E_2 = 12 \cdot I_0 \cdot \frac{k_2}{l_2^2} \cdot \cos \alpha_2 = I_0 \cdot 0,00048 \quad (8)$$

(освещенность E связана с энергией, проходящейся на 1 мм^2 , а сила света I – с энергией, распространяющейся в телесном угле 1 стерадиан).

Видно, что освещенность, создаваемая «центральным» диодом и его соседями 1-го порядка, примерно вчетверо больше вклада в освещенность от диодов 2-го порядка.

Аналогичный расчет для 18 соседей третьего порядка дает поправку освещенности около 9%. Таким образом, итерационный процесс расчета оказывается достаточно медленно сходящимся. В связи с этим помимо аналитического расчета был выполнен автоматизированный, с суммированием вклада в освещенность всех диодов установки. Тем не менее выводы по приближенному аналитическому и автоматизированному вариантам расчета оказались, как будет более подробно указано ниже, идентичными.

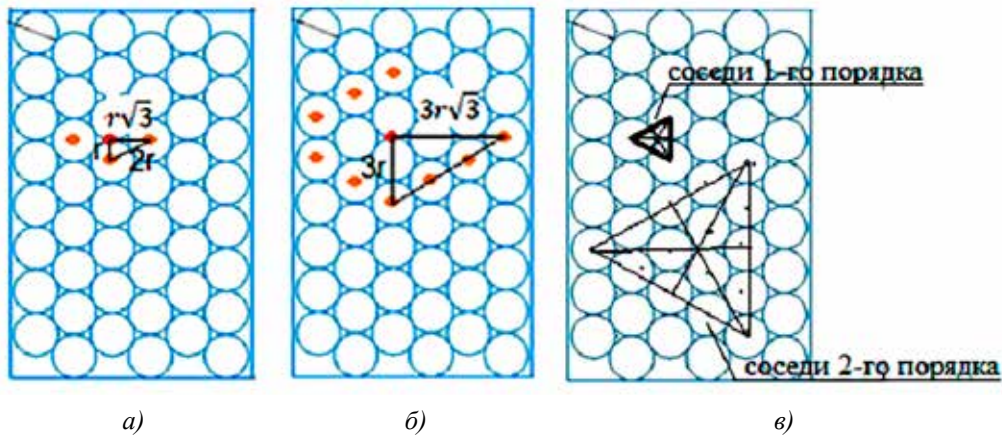


Рис. 4. Диоды-соседи для точек: а) второго типа, 1-го порядка; б) второго типа, 2-го порядка; в) третьего типа, 1-го и 2-го порядков (со смещением точки наблюдения)

Освещенность в точках первого типа, расположенных непосредственно над диодами, сравнивалась с освещенностями двух других характерных точек рабочей области, после чего оценивалась относительная разница их освещенностей.

Точки второго типа расположены в серединной точке отрезка, соединяющего центры соседних диодов (рис. 4, а).

Два диода, находящиеся по горизонтали на расстоянии r от точки наблюдения (рис. 4, а), освещают ее под углом, равным $22,89^\circ$, что соответствует 96% мощности излучения по нормали, а два диода, находящиеся по горизонтали на расстоянии $r\sqrt{3}$, излучают под углом, равным $36,18^\circ$, что соответствует 92% мощности излучения по нормали. Расчет освещенности аналогичен описанному для точек первого типа.

Расчет по формулам, аналогичным (6)–(8), дает для точек второго типа $12,19 \cdot 10^{-4} \cdot I_0$ в 1-м порядке, $6,82 \cdot 10^{-4} \cdot I_0$ во 2-м, $3,41 \cdot 10^{-4} \cdot I_0$ в 3-м. Суммарная освещенность составляет $22,42 \cdot 10^{-4} \cdot I_0$, то есть соседи третьего порядка вносят поправку около 15%.

Точки третьего типа расположены в точке пересечения биссектрис равностороннего треугольника, образованного центрами трех ближайших друг к другу диодов (рис. 4, в).

Эти три диода, находящиеся по горизонтали на расстоянии $2r/\sqrt{3}$ от точки наблюдения (рис. 4, в), освещают ее под углом, равным $25,99^\circ$, что соответствует 95% мощности излучения по нормали. Для соседей 2-го порядка точка третьего типа удалена по горизонтали на расстояние $8r/\sqrt{3}$, излучают под углом, равным

$62,85^\circ$, что соответствует 61% мощности излучения по нормали.

Расчет по формулам, аналогичным (6)–(8), дает для точек третьего типа $10 \cdot 10^{-4} \cdot I_0$ в 1-м порядке, $3,41 \cdot 10^{-4} \cdot I_0$ во 2-м, $1,64 \cdot 10^{-4} \cdot I_0$ в 3-м. Суммарная освещенность составляет $15,05 \cdot 10^{-4} \cdot I_0$, то есть соседи третьего порядка вносят поправку около 11%.

Относительное расхождение между точками трех рассмотренных типов составляет на третьей итерации (то есть при учете соседних диодов 3-го порядка) не более 6%, в связи с чем можно говорить о достаточной однородности освещенности рабочей области.

Однако медленная сходимость итерационного процесса делает желательным учет вклада в освещенность абсолютно всех диодов разработанного светильника. Поэтому по методике, описанной выше, был выполнен расчет средствами электронных таблиц. Каждому диоду соответствует строка таблицы, в ячейки которой введены координаты центра диода, расстояние до точки наблюдения, угол, под которым диод излучает на эту точку (он же угол падения лучей), вклад в суммарную освещенность. Отдельные фрагменты таблицы выделены точкам наблюдения каждого из трех типов. Координаты интересующей точки могут быть заданы, после чего происходит автоматизированный пересчет светового поля – вклада отдельных диодов и суммарной освещенности. Расчет показал, что в центральной части рабочей области относительное расхождение $\delta = (E_{\max} - E_{\min}) / \langle E \rangle$ суммарной освещенности для точек трех типов не превышало 0,3%. Освещенность точек на периферии рабочей зоны, естественно, ниже, чем в ее центре.

Заключение

Таким образом, разработанный источник излучения обеспечивает высокую степень однородности освещенности в рабочей зоне установки, соответствует предъявляемым требованиям и может использоваться при проведении биологических экспериментов.

Работа выполнена в рамках государственного задания, номер государственной регистрации НИОКТР 122031100058-3. Реализованный светильник используется в экспериментах лаборатории экологии и иммунологии Института экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН.

Список литературы

1. Туми А., Смятская Ю.А., Политаева Н.А. Использование биомассы микроводорослей *Chlorella sorokiniana* в качестве энтеросорбента // Бутлеровские сообщения. 2020. Т. 61. № 1. С. 126–132.

2. Заболотских В.В., Васильев А.В., Смахина Л.А., Семихвостова О.В. Разработка технологических подходов к получению альтернативного биотоплива из водорослей // Академический вестник ELPIT. 2019. Т. 4. № 1 (7). С. 12–38.

3. Политаева Н.А., Смятская Ю.А., Кузнецова Т.А. Культивирование и использование микроводорослей *Chlorella* и высших водных растений ряска *Lemna*. СПб.: Санкт-Петербургская издательско-книготорговая фирма «Наука», 2017. 87 с.

4. Яговкин А.Ю., Трофимчук О.А., Туранов С.Б., Пестикова П.В., Романенко С.А. Фотобиореактор для культивирования микроводорослей // Патент РФ № 2759450 С1. Патентообладатель ФГАОУ ВО «Исследовательский Томский политехнический университет». 2021. Бюл. № 32.

5. Комиссарова А.В., Пантвич В.Ж., Ермакова Л.С., Кудрявцева Ю.С. Фотобиореакторы для культивирования микроводорослей с целью получения из них биотоплива // Актуальные исследования. 2020. № 22 (25). С. 9–11.

6. Романенко С.А., Геворгиз Р.Г. Конструктивные особенности портативных фотобиореакторов для микроводорослей // Актуальные вопросы биологической физики и химии. 2019. Т. 4. № 2. С. 289–294.

7. Импульсный блок питания: принцип работы, схемы // Библиотека радиолюбителя. [Электронный ресурс]. URL: <https://radiofiles.ru/raznoe/impulsnyy-blok-pitaniya-svoimirukami-printsip-raboty-shemy/> (дата обращения: 27.10.2022).