



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2014100232/10, 09.01.2014

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
09.01.2014

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 09.01.2014

(45) Опубликовано: 10.07.2015 Бюл. № 19

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: AZ 017614 В1, 30.01.2013. RU 2497944 С2, 10.11.2013. SU 1373728 А1, 15.02.1988. SU 1034663 А1, 15.08.1983. ЧУБЧИКОВА И.Н., МИНЮК Г.С. и др., Оптимизация состава питательной среды для выращивания микроводоросли *Scotiellopsis rubescens* v. *nat.* (chlorophyceae). Ученые записки Таврического национального университета В.И. Вернадского. Серия "биология, химия" Т.26, (65)N4,2013, с. 196-205. SU 506962 А1, 28.02.1977

Адрес для переписки:

167982, г.Сыктывкар, ул. Коммунистическая, 28,
Институт биологии Коми научного центра УрО
РАН, Патентно-информационная группа

(72) Автор(ы):

Михайлюк Александр Викторович (RU),
Щемелинина Татьяна Николаевна (RU),
Анчугова Елена Михайловна (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное
учреждение науки Институт биологии Коми
научного центра Уральского отделения
Российской академии наук (RU)

(54) ПИТАТЕЛЬНАЯ СРЕДА ЛЮКА ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ

(57) Реферат:

Изобретение относится к биотехнологии. Питательная среда для культивирования микроводорослей содержит минеральный ионит «Ionsorb™», стабилизированный куриный помет

и водопроводную воду в заданном соотношении компонентов. Изобретение позволяет повысить выход биомассы микроводорослей и упростить способ приготовления питательной среды. 4 табл.

RU 2 556 126 С1

RU 2 556 126 С1



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**(21)(22) Application: **2014100232/10, 09.01.2014**(24) Effective date for property rights:
09.01.2014

Priority:

(22) Date of filing: **09.01.2014**(45) Date of publication: **10.07.2015** Bull. № 19

Mail address:

**167982, g.Syktyvkar, ul. Kommunisticheskaja, 28,
Institut biologii Komi nauchnogo tsentra UrO RAN,
Patentno-informatsionnaja grupp**

(72) Inventor(s):

**Mikhajljuk Aleksandr Viktorovich (RU),
Shchemelinina Tat'jana Nikolaevna (RU),
Anchugova Elena Mikhajlovna (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Federal'noe gosudarstvennoe bjudzhetnoe
uchrezhdenie nauki Institut biologii Komi
nauchnogo tsentra Ural'skogo otdelenija
Rossijskoj akademii nauk (RU)**

(54) **HATCH NUTRIENT MEDIUM FOR CULTIVATION OF MICROALGAE**

(57) Abstract:

FIELD: biotechnology.

SUBSTANCE: nutrient medium for cultivation of
microalgae comprises mineral ion exchanger
"Ionsorb™", stabilised chicken manure and tap water
in a predetermined ratio of components.

EFFECT: invention enables to increase the yield of
biomass of microalgae and to simplify the method of
preparing the nutrient medium.

4 tbl

Изобретение относится к области биотехнологии. Предлагается альгоизбирательная питательная среда с бактерицидными, фунгицидными и антивирусными свойствами для культивирования на ней микроводорослей в большом количестве в короткие сроки.

Известно, что для культивирования микроводорослей используют различные питательные среды. Например, среды Тамия и Болда [Гайсина Л.А. Современные методы выделения и культивирования водорослей / Л.А. Гайсина, А.И. Фазлутдинова, Р.Р. Кабиров // Учебное пособие. - 2008. - 151 с.] (см. Таблицы 1, 2).

| Таблица 1 | | |
|---|--|------------------------------|
| Среда Тамия: (г/л, применяется в различных разведениях для зеленых водорослей): | | |
| Компонент | Маточный раствор (г/л дистиллированной воды) | Используемое количество (мл) |
| Макроэлементы | | |
| KNO ₃ | 5 | |
| FeSO ₄ ·7H ₂ O | 0,003 | |
| MgSO ₄ ·7H ₂ O | 2,5 | |
| KH ₂ PO ₄ | 1,25 | |
| ЭДТА | | 0,037 |
| Раствор микроэлементов | | 1 |
| ZnSO ₄ ·4H ₂ O | 0,222 | |
| MnCl ₂ ·4H ₂ O | 1,81 | |
| MoO ₃ | 176,4 мг/10 л | |
| H ₃ BO ₃ | 2,86 | |
| NH ₄ VO ₃ | 229,6 мг/10 л | |

В 999 мл дистиллированной воды необходимо добавить макроэлементы и по 1 мл каждого раствора микроэлементов, затем автоклавировать.

| Таблица 2 | | | |
|--------------------------------------|--|------------------------------|--------------------------------------|
| Питательная среда Болда [1]: | | | |
| Компонент | Маточный раствор (г/л дистиллированной воды) | Используемое количество (мл) | Концентрация в конечной среде (моль) |
| Макроэлементы | | | |
| NaNO ₃ | 25 | 10 | 2,94×10 ⁻³ |
| CaCl ₂ ·2H ₂ O | 2,5 | 10 | 1,70×10 ⁻⁴ |
| MgSO ₄ ·7H ₂ O | 7,5 | 10 | 3,04×10 ⁻⁴ |
| K ₂ HPO ₄ | 7,5 | 10 | 4,31×10 ⁻⁴ |
| KH ₂ PO ₄ | 17,5 | 10 | 1,29×10 ⁻⁴ |
| NaCl | 2,5 | 10 | 4,28×10 ⁻⁴ |

| | | | |
|--------------------------------------|-------|---|-----------------------|
| Щелочной раствор ЭДТА | | 1 | |
| ЭДТА | 50 | | 1,71×10 ⁻⁴ |
| КОН | 31 | | 5,53×10 ⁻⁴ |
| Кислый раствор железа | | 1 | |
| FeSO ₄ | 4,98 | | 1,79×10 ⁻⁵ |
| H ₂ SO ₄ | | 1 | |
| Раствор Бора | | 1 | |
| H ₃ BO ₃ | 11,42 | | 1,85×10 ⁻⁴ |
| Раствор микроэлементов | | 1 | |
| ZnSO ₄ ·7H ₂ O | 8,82 | | 3,07×10 ⁻⁵ |
| MnCl ₂ ·4H ₂ O | 1,44 | | 7,28×10 ⁻⁶ |
| MoO ₃ | 0,71 | | 4,93×10 ⁻⁶ |

| | | | |
|--|------|--|-----------------------|
| $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ | 1,57 | | $6,29 \times 10^{-6}$ |
| $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ | 0,49 | | $1,68 \times 10^{-6}$ |

В 936 мл дистиллированной воды необходимо добавить по 10 мл раствора каждого из 6 макроэлементов и по 1 мл каждого раствора микроэлементов, затем автоклавировать. pH конечного раствора - 6,6.

Недостатком является то, что процесс приготовления данных сред трудоемок и требует значительных затрат времени, т.к. вышеуказанные среды содержат большое количество необходимых для роста и развития водорослей макро- и микроэлементов, которые группируются в зависимости от химических свойств в отдельные маточные растворы, и используются по мере надобности. При хранении маточных растворов возможно их инфицирование, что требует приготовления новых и увеличивает ресурсо- и энергозатраты на выращивание водорослей. Кроме того, на вышеуказанных средах длительные сроки культивирования водорослей или при коротких сроках культивирования низкий выход биомассы. Также, во избежание инфицирования питательной среды требуется ее стерилизация, что не совсем удобно при приготовлении большого объема.

Задачей изобретения является создание нового состава питательной среды.

Технический результат заключается в оптимизации состава питательной среды и в упрощении технологического процесса ее приготовления.

Технический результат достигается тем, что в питательной среде Люка для культивирования микроводорослей, содержащей воду, согласно изобретению в состав входит водопроводная вода, минеральный ионит «Ionsorb™», стабилизированный гашеной известью и минеральным ионитом «Ionsorb™» куриный помет при следующем соотношении компонентов:

водопроводная вода - 99,75%;

минеральный ионит «Ionsorb™» - 0,2%;

стабилизированный гашеной известью и минеральным ионитом «Ionsorb™» куриный помет - 0,05%.

В состав заявленной питательной среды входит:

1. «Ionsorb™» - минеральный ионит, получаемый из комплекса алюмосиликатов, по авторской технологии /Премия Роснедра и РосГео: «за достижения в решении фундаментальных и прикладных проблем геологии», за 2010 г./, на собственном уникальном месторождении. Ионсорбы или ионообменные сорбенты - твердые, практически нерастворимые вещества природного происхождения, способные к ионному обмену, обычно имеющие длительный срок службы. Минеральный ионит включает в себя следующий состав компонентов - $((\text{K}, \text{Ca}, \text{Na})_{0,84}(\text{Al}_{0,47}\text{Fe}_{0,66}\text{Mg}_{0,40})(\text{SiAl})_4\text{O}_{10}(\text{OH})_2)$.

Ионсорбы и продукты на их базе могут использоваться в следующих областях: городскими службами и ЖКХ (для очистки и смягчения жесткости питьевой воды, для очистки дождевых стоков, для очистки городских водоемов, прудов и рек от тяжелых металлов и нефтепродуктов, на городских свалках, полигонах и местах хранения городского мусора и ТБО в качестве подстилающего грунта, для дезактивации илов очистных сооружений и мн. др.), промышленностью (для очистки промышленных водостоков, для смягчения и очистки воды всех типов от дохимикатов, радионуклидов и тяжелых металлов, для быстрого устранения последствий масляных и топливных разливов, для реабилитации загрязненного нефтехимией грунта мн. др.), МЧС (при тушении лесных и торфяных пожаров, для дезактивации воды и почвы с повышенной радиоактивностью, для быстрого устранения последствий нефтяных разливов и

реабилитации загрязненных нефтехимией грунтов, для дезактивации химически зараженных территорий, для очистки вод, пострадавших от действия ядохимикатов), сельским хозяйством (для восстановления плодородного слоя почв сельхоз назначения и рекультивации агроландшафтов, для защиты грунтовых и поверхностных вод от действия химических удобрений, пестицидов и гербицидов, для увеличения урожайности всех видов сельскохозяйственных культур; при производстве кормовых добавок, для ускоренной переработки куриного помета и свиного навоза, с сохранением большого количества полезных элементов, как сорбент минерализатор воды Акваионит, позволяет улучшить качество питьевой воды для животных, как санитарная подстилка для животных (Петсорб) и мн. др.), лесным хозяйством (как капсулы для семян (саженцев), для скорейшего заселения гарей и мест лесных пожаров, для создания негорючей полосы - превентивная защита полей, лесов, поселений экологическим покрытием, как минерализатор воды, для повышения эффективности при тушении пожаров с самолетов, как защитная обмазка стволов деревьев от солнечных ожогов и вредителей), экологическими службами (для перевода органических и скоропортящихся отходов в стабилизированные продукты (корма, удобрения), для создания оазисов в пустынях, каменистых, солевых и техногенных зонах, для создания искусственных грунтов и почв, для создания ветро- и солнцезащитных барьеров; для очистки больших водоемов, болот, топей от нефтяных загрязнений и мн. др.), строительством (для изготовления эффективных, экологически безопасных покрытий (красок, штукатурки, лаков), как экологический наполнитель для наливных полов, для МДФ плит и прочих строительных материалов, использующих полимерные смолы, для сорбции фенолов и прочих опасных и летучих веществ, при производстве добавок для специальных бетонов и мн. др.), медициной и косметологией (для активация процессов регенерации клеток; для восстановления сил после изнурительных тренировок и соревнований, для восстановления костного состава (при переломах, вывихах, трещинах) и мышечной ткани, для выведения продуктов распада антибиотиков, наркотиков и алкоголя и мн. др.).

2. Водопроводная вода. Для улучшения качественной характеристики воды добавляется «Ionsorb™» в соотношении водопроводная вода от 96% до 98%: минеральный ионит от 2% до 4%. Отстаивается в течение 40-60 минут.

3. Стабилизированный куриный помет, стабилизация помета проводится в 2 стадии:
- обработка помета - 3,5-5% от массовых показателей негашеной извести. Затем перемешивание в течение 20-30 минут;

- в обработанный куриный помет добавляют минеральный ионит «Ionsorb™» в количестве 3,5-5% от массовых показателей и перемешивают в течение 20-30 минут.

Полученную смесь соединяют с водопроводной водой (в соотношении 0,25% обработанного куриного помета совместно с минеральным ионитом «Ionsorb™» к 99,75% табл.3).

40 Питательная среда Люка, для культивирования микроводорослей включает в себя минеральный ионит «Ionsorb™», водопроводную воду и стабилизированный куриный помет. Данное комплексное вещество применяют вместо основных макро- и микроэлементов, входящих в состав питательных сред Болда и Тамия.

Для экспериментов «Ionsorb™» был любезно предоставлен фирмой-производителем ООО «Технопарк». Производство налажено в Бондарском районе Тамбовской области вблизи месторождения.

Пример 1. Проведен подбор и расчет оптимального количества компонентов питательной среды для приготовления водорослей (см. Таблицу 3). В питательную

среду добавляли по 50 мл одноклеточной зеленой водоросли с титром клеток - 10^9 . Режим - освещение фитолампой OSRAM L 18W/77, аэрирование компрессором Tetratec APS 400, температура - комнатная. Продолжительность опыта - 18 суток.

5

| Среда | Вода водопроводная, л | «Ionsorb™», г | Стабилизированный куриный помет, г | Число клеток водорослей, $\times 10^9/\text{дм}^3$ | Биомасса, мг/дм ³ |
|-------|-----------------------|---------------|------------------------------------|--|------------------------------|
| I | 18 | 45 | 9,0 | 6,5 | 327±95 |
| II | 18 | 4,5 | 0,9 | 0,8 | 61±23 |
| III | 18 | 45 | не добавляли | 0,01 | 1±0,8 |
| IV | 18 | 4,5 | не добавляли | 0 | 0 |

10

Как видно из Таблицы 3, наибольший прирост биомассы происходит в среде I. Для проведения дальнейших опытов был выбран состав питательной среды I (питательная среда Люка).

15

Пример 2. Готовится среда Люка и среда Тамия по 18 литров. Среда не стерилизуется. Для того, чтобы среда Тамия не инфицировалась, в нее вводится минеральный ионит - 0,001% от объема воды. Используется одноклеточная эустигматовая водоросль *Eustigmatos magna* №7 (2009 г.) (коллекция Института биологии Коми НЦ УрО РАН, отв. Е.Н. Патова) - 50 мл (титр клеток 10^9).

20

Режим - освещение фитолампой OSRAM L 18W/77, аэрирование компрессором Tetratec APS 400, температура - комнатная. Продолжительность опыта - 18 суток.

Результаты опыта показаны в Таблице 4.

25

| Питательная среда | <i>Eustigmatos magna</i> №7 (2009 г.) | |
|-------------------|--|------------------------------|
| | Число клеток водорослей, $\times 10^9/\text{дм}^3$ | Биомасса, мг/дм ³ |
| Тамия | 0,8 | 97,0 |
| Люка | 6,0 | 311,0 |

30

Прирост биомассы на среде Люка превышает в 3 раза прирост биомассы на среде Тамия. Число клеток водорослей в 7,5 раз больше. При микроскопировании, кроме клеток водорослей, других микроорганизмов не обнаружено, что говорит об отсутствии инфицированности среды.

35

На основании полученных данных можно сделать вывод, что среда Люка на основе «Ionsorb™» сокращает сроки роста и повышает выход биомассы водорослей, а также обладает бактерицидными, фунгицидными и антивирусными свойствами.

40

За счет исключения приготовления маточных растворов технология приготовления среды значительно упрощается, а выход биомассы увеличивается, что существенно снижает ресурсо- и энергозатраты. При помощи питательной среды Люка можно приготовить водоросли в значительном количестве для использования их в полупромышленных и промышленных экспериментах и технологиях.

Формула изобретения

45

Питательная среда для культивирования микроводорослей, содержащая воду, отличающаяся тем, что в состав входит водопроводная вода, минеральный ионит «Ionsorb™» и стабилизированный гашеной известью и минеральным ионитом «Ionsorb™» куриный помет при следующем соотношении компонентов:

водопроводная вода - 99,75%;

минеральный ионит «Ionsorb™» - 0,2%;

стабилизированный гашеной известью и минеральным ионитом «Ionsorb™» куриный помет - 0,05%.

5

10

15

20

25

30

35

40

45