

Тип статьи: научная
УДК 628.3
DOI: 10.35887/2305-2538-2024-4-158-166

МИКРОВОДОРОСЛИ ХЛОРЕЛЛА ДЛЯ ОЧИСТКИ СТОКОВ В СЕЛЬСКОМ ХОЗЯЙСТВЕ

Юлия Владимировна Мещерякова¹, Станислав Александрович Нагорнов²

^{1,2} *Всероссийский научно-исследовательский институт использования техники и нефтепродуктов в сельском хозяйстве, г. Тамбов, Российская Федерация*

¹ *Тамбовский государственный технический университет, г. Тамбов, Российская Федерация*
¹ yulya-belova@yandex.ru, ² snagornov@yandex.ru

Автор ответственный за переписку: Юлия Владимировна Мещерякова, yulya-belova@yandex.ru
Corresponding author: Yulia Meshcheryakova, yulya-belova@yandex.ru

Реферат. Перспективным способом решения актуальных проблем энергосбережения и снижения загрязнения окружающей среды может быть использование микроводорослей. Эти простейшие микроорганизмы способны очистить загрязненные стоки в сельском хозяйстве. В стоках содержатся азотные, фосфорные, сульфатные и другие загрязнения. С целью оптимизации технологии получения биодизельного топлива из липидных компонентов в условиях малых сельскохозяйственных товаропроизводителей исследована возможность применения *Chlorella vulgaris* при очистке от ионов аммония и фосфат ионов. Хлореллу культивировали в фотобиореакторе на стандартной среде Тамбия и сточных водах в течении 10 дней при температуре 30°C и освещенности 14 кЛк в красном (620-740 нм), синем (430-500 нм) и зеленом (500-565 нм) диапазонах длин волн. Фильтрат суспензии микроводоросли отбирали в течение нескольких дней и оценивали на содержание фосфат и нитрат ионов фотометрическим методом. Наибольший прирост наблюдался при освещенности в красном диапазоне (выше в 2 раза), минимальное значение в зеленом. В ходе исследований установлено, что рост клеток происходит как в синтетических, стандартных питательных средах так и на сточных водах, последняя является более рентабельной. Установлено, что при добавлении хлореллы в сточные воды наблюдается максимальное снижение содержания ионов аммония и фосфат-анионов на 6-7 день (на 19-59% и 5-29% соответственно), что вероятнее всего связано с использованием микроводорослью этих элементов для питания и поддержания жизнедеятельности. Предложена схема выращивания *Chlorella vulgaris* на сточных водах для дальнейшего получения липидных компонентов биодизельного топлива.

Ключевые слова: биодизельное топливо, ионы аммония, сточные воды, фосфат ионы хлорелла.

CHLORELLA MICROALGAE FOR WASTEWATER TREATMENT IN AGRICULTURE

Yulia Meshcheryakova¹, Stanislav Nagornov²

^{1,2} *All-russian research institute for use of machinery and petroleum products in agriculture, Tambov, Russian Federation*

² *Tambov State Technical University, Tambov, Russian Federation*
¹ yulya-belova@yandex.ru, ² snagornov@yandex.ru

Abstract. A promising way to solve current problems of energy saving and reducing environmental pollution may be the use of microalgae. These simple microorganisms are capable of purifying contaminated wastewater in agriculture. Wastewater contains nitrogen, phosphorus, sulfate and other contaminants. In order to optimize the technology of obtaining biodiesel fuel from lipid components in the conditions of small agricultural producers, the possibility of using *Chlorella vulgaris* in cleaning from

ammonium ions and phosphate ions was studied. *Chlorella* was cultivated in a photobioreactor on a standard Tamiya medium and wastewater for 10 days at a temperature of 30 ° C and an illumination of 14 kLx in the red (620-740 nm), blue (430-500 nm) and green (500-565 nm) wavelength ranges. The filtrate of the microalgae suspension was collected over several days and assessed for the content of phosphate and nitrate ions using a photometric method. The greatest increase was observed with illumination in the red range (2 times higher), the minimum value in the green. The studies found that cell growth occurs both in synthetic, standard nutrient media and in wastewater, the latter being more cost-effective. It was found that when adding *chlorella* to wastewater, the maximum decrease in the content of ammonium ions and phosphate anions is observed on the 6-7th day (by 19-59% and 5-29%, respectively), which is most likely due to the use of these elements by microalgae for nutrition and maintenance of life. A scheme for growing *Chlorella vulgaris* on wastewater for further production of lipid components of biodiesel fuel is proposed.

Keywords: biodiesel, ammonium ions, wastewater, phosphate chlorella ions.

Для цитирования: Мещерякова Ю.В., Нагорнов С.А. Микроводоросли хлорелла для очистки стоков в сельском хозяйстве // Наука в Центральной России Science in the Central Russia. 2024. Т. 70, № 4. С. 158-166. <https://doi.org/10.35887/2305-2538-2024-4-158-166>.

For citation: Meshcheryakova Yu., Nagornov S. Chlorella microalgae for wastewater treatment in agriculture. *Nauka v central'noj Rossii* = Science in the Central Russia: 2024; 70(4): 158-166. (In Russ.) <https://doi.org/10.35887/2305-2538-2024-4-158-166>.

Введение. Одноклеточные микроорганизмы микроводоросли, известны еще с древнейших времен. Однако, широкое их применение освоили только в 20 веке. В настоящее время микроводоросли применяют в технике, медицине, косметологии, пищевой промышленности, химической промышленности, сельском хозяйстве и множестве других отраслей (рисунок 1). Микроводоросли изготавливают в виде порошка и суспензии, таблеток и капсул, пасты и крема. Их применение настолько широко, что культивирование осуществляют как в промышленных масштабах, так и лабораторных и домашних условиях. На территории с теплым климатом микроводоросли выращивают под открытым небом (водоемы, бассейны), в более холодном климате в сконструированных фотобиореакторах, где поддерживаются все необходимые условия для жизнедеятельности клетки.



Рисунок 1 – Примеры использования микроводорослей в различных отраслях

Большое внимание к простейшим микроводорослям обусловлено содержанием в их клетках витаминов, белков, незаменимых аминокислот, липидов, микроэлементов и т.д. В зависимости от вида водорослей различается и элементный состав клеток водорослей. В. А. Лукьянов назвал водоросли «зеленым золотом», так как с каждым годом на рынке все больше появляется продуктов на их основе. Самые простые и востребованные одноклеточные водоросли — это хлорелла, эвглена и спирулина. Хлорелла уникальная микроводоросль, ее клетка богата хлорофиллом, занимает лидирующее место по содержанию белка, витаминов и микроэлементов. Она способна поглощать токсины и выводить холестерин из организма, повышает плодородие почв и способствует росту растений и животных. Используется для получения биодизельного топлива и очистки водоемов.

Стандартная среда для выращивания хлореллы содержит ряд необходимых макро и микроэлементов (часто используемые среды: Тамия, Болда, Бенек). Изменяя условия культивирования, хлорелла способна накапливать те или иные питательные вещества. Так сокращая в питательных средах азотный компонент, наблюдается рост липидной фракции [1]. При недостатке в питательной среде фосфора наблюдается увеличение углеводов, а избыток фосфора сказывается на увеличении содержания рибофлавина [2]. В зависимости от отрасли использования биомассы хлореллы подбираются специфические условия культивирования. Использование микроводоросли в качестве компонента для получения биодизельного топлива [3] одно из многообещающих и перспективных направлений. Выращивание хлореллы на модернизированных питательных средах позволит получать ценные липидные компоненты, триацилглицерины, которые необходимы в синтезе метиловых эфиров растительных масел.

Однако, культивирование микроводоросли в качестве источника для биодизельного топлива на стандартных средах имеет свои недостатки: процесс занимает длительное время, необходимо соблюдать стерильные условия, экономически не оправдано в условиях малых сельскохозяйственных товаропроизводителей. Перспективным представляется культивирование хлореллы на сточных водах промышленных предприятий, предприятий сельскохозяйственного назначения (птицефабрики, свиноводческие, мясомолочные и др.), а также хозяйственно-бытовых объектов. В сельскохозяйственных стоках содержатся азотные, фосфорные, сульфатные и другие загрязнения, которые и необходимы для благоприятного развития микроорганизмов.

Решением экологической проблемы по загрязнению окружающей среды сточными водами является выращивание микроводоросли, в частности хлореллы. Как правило на первой ступени сточные воды подвергаются механической очистки, затем биологической в системе аэротенков и их отстойников. В этих сооружениях используются микроорганизмы в ходе своей жизнедеятельности, поглощают кислород и выделяют углекислый газ, т.е. используемые очистные сооружения являются потребителями кислорода. Загрязненные воды, проходя ступени очистки, не всегда соответствуют требуемым предельно-допустимым сбросам. Микроводоросли способны использовать углекислый газ и дезинфицировать [4] сточную воду, а полученную биомассу на их основе можно применять в различных отраслях хозяйства [5].

Наиболее распространенной водорослью для снижения показателей качества воды до нормативных значений является хлорелла [6-9]. В работах [10-11] хлореллу используют в очистных сооружениях кожевенного предприятия. Получены положительные результаты по этому направлению, наблюдается снижение концентрации основных тяжелых металлов, а также фенолов и нитратов.

В связи с этим, целью настоящей работы является установление возможности культивирования хлореллы на загрязненных сточных водах небольших предприятий сельскохозяйственного назначения или промышленных предприятий для последующего использования биомассы в технологиях получения метиловых эфиров растительных масел.

Материалы и методы. Объектом исследования выбрана одноклеточная зеленая микроводоросль хлорелла *Chlorella vulgaris*. Род хлорелла самая распространенная сине-зеленая микроводоросль, ее клетки в виде шара или эллипса достигают диаметра 1,5-8 мкм. Хлореллу культивировали в фотобиореакторе на стандартной среде Тамийя и сточных водах (рисунок 2).

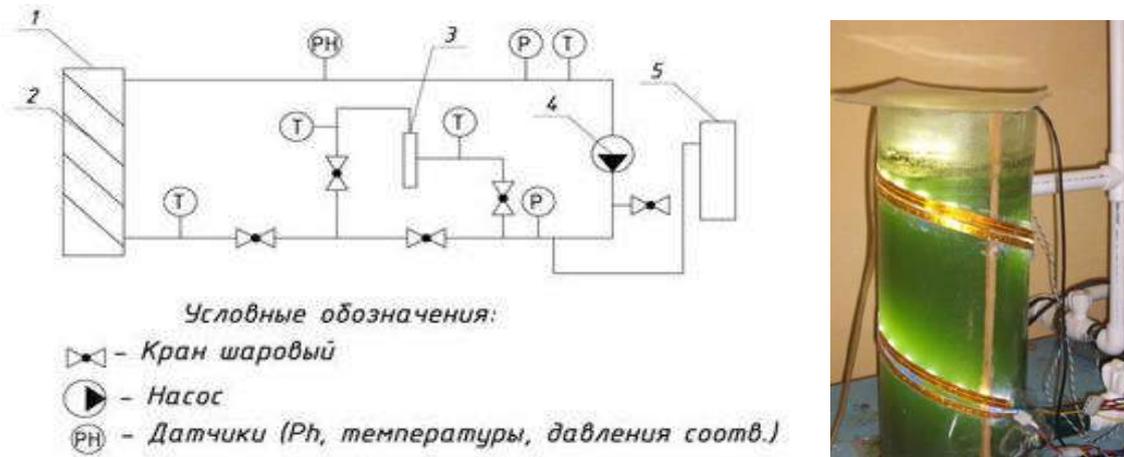


Рисунок 2 – Культивирование *Chlorella vulgaris*

Загрязненная и стандартная среды были приготовлены в лабораторных условиях. В них высаживали клетки хлореллы и культивировали в течении 10 дней при температуре 30°C и освещенности 14 кЛк. Для освещения использовали светодиодные ленты в красном (620-740 нм), синем (430-500 нм) и зеленом (500-565 нм), диапазоне длин волн.

Полученную суспензию фильтровали для отделения биомассы (рисунок 3). Рост клеток определяли методом прямого подсчета в камере Горяева. Фильтрат суспензии микроводоросли отбирали в течение нескольких дней и оценивали на содержание фосфат и нитрат ионов. Полученную биомассу использовали как источник компонентов для синтеза биодизельного топлива.

Определение содержание ионов аммония, содержание фосфат-анионов осуществляли фотометрическим способом по стандартным методикам ГОСТ 33045-2014, 18309-2014.



Рисунок 3 – Фильтрация суспензии хлореллы

Результаты и их обсуждение. На первом этапе проводили культивирование микроводоросли на двух средах (рисунок 4-5) при различной освещенности. Наибольший прирост наблюдался при освещенности в красном диапазоне, выше в 2-3 раза, чем при освещенности в синем диапазоне, минимальное значение в - зеленом. При культивировании зеленым светом прирост биомассы незначительный (график накопления биомассы не представлен). Культивирование зеленым светом является не эффективным в следствии его отражения хлорофиллом.

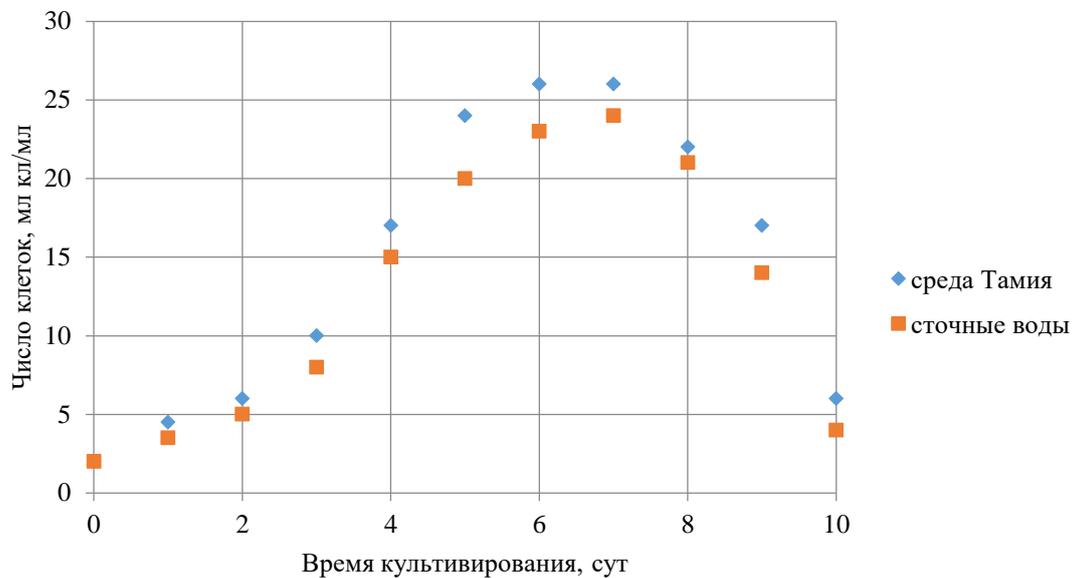


Рисунок 4 – Прирост биомассы микроводоросли хлореллы при освещенности в синем диапазоне

В ходе исследований установлено, что рост клеток происходит как в синтетических, стандартных питательных средах так и на сточных водах, последняя является более рентабельной. В обоих случаях рост микроводоросли хлорелла согласуется со стандартной S – образной кривой роста. Наблюдается фаза приспособления или адаптации (рост клеток практически не происходит), фаза роста (клетки интенсивно размножаются), фаза замедленного роста (небольшой прирост клеток), стационарная фаза (численность клеток не изменяется) и фаза отмирания (численность клеток сокращается).

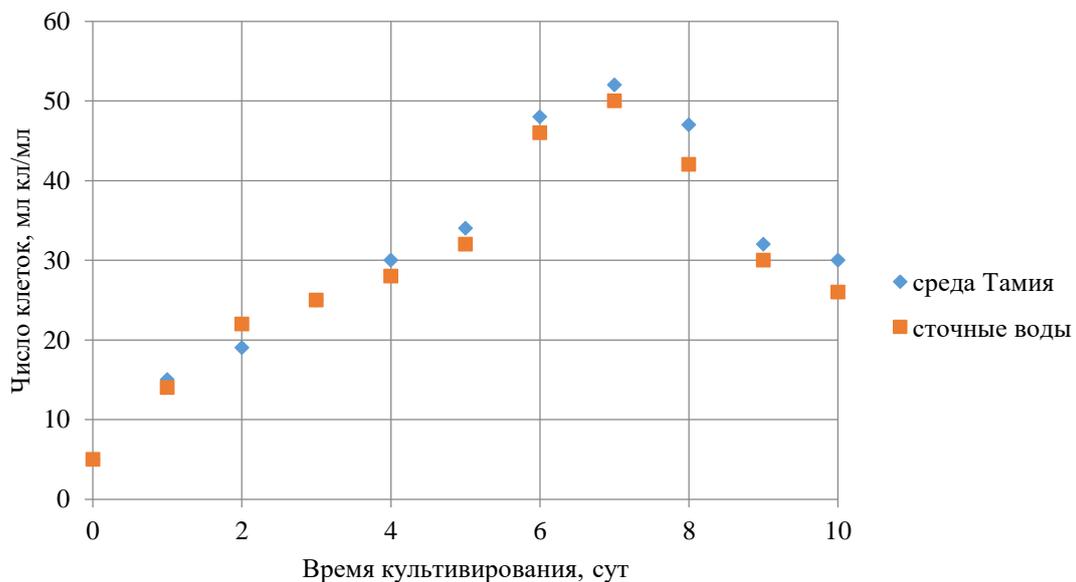


Рисунок 5 – Прирост биомассы микроводоросли хлореллы при освещенности в красном диапазоне

После оценки прироста биомассы микроводорослей и ее отделения от жидкого компонента, анализировали полученный фильтрат на наличие аммонийных и фосфат ионов. (рисунок 6-7).

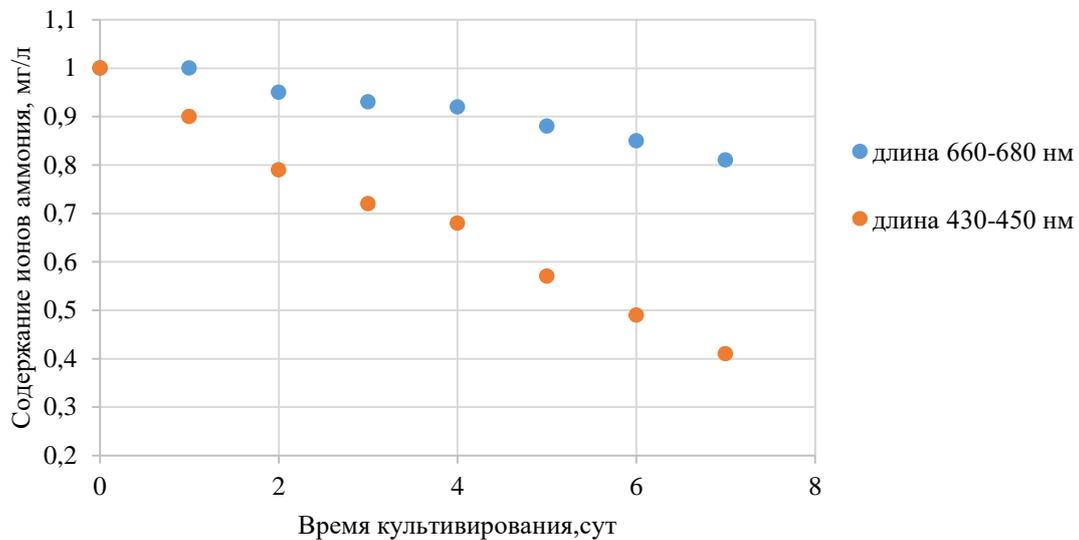


Рисунок 6 – Изменение содержания ионов аммония при культивировании хлореллы

Установлено, что при добавлении хлореллы в сточные воды наблюдается максимальное снижение содержания ионов аммония и фосфат-анионов на 6 -7 день (на 19-59% и 5-29% соответственно), что вероятнее всего связано с использованием микроводоросли этих элементов для питания и поддержания жизнедеятельности. Как известно, азот и фосфор является ключевым компонентом в питании и метаболизме хлореллы, а освещение в красном и синем спектре способствует максимальному приросту.

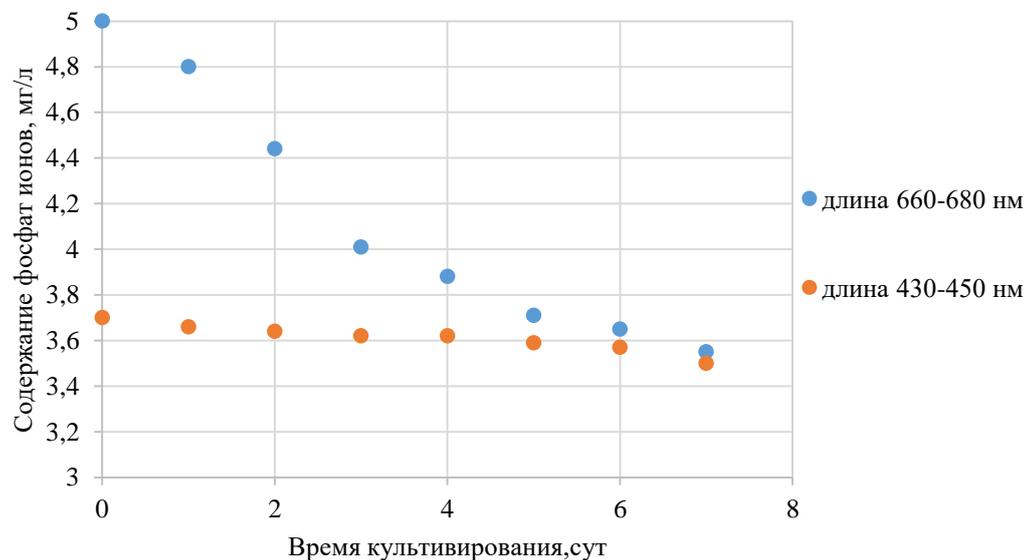


Рисунок 7 – Изменение содержания фосфат ионов при культивировании хлореллы

На рисунке 8 представлена схема (в общем виде) получения биодизельного топлива из липидных компонентов хлореллы и культивировании ее на сточных водах.

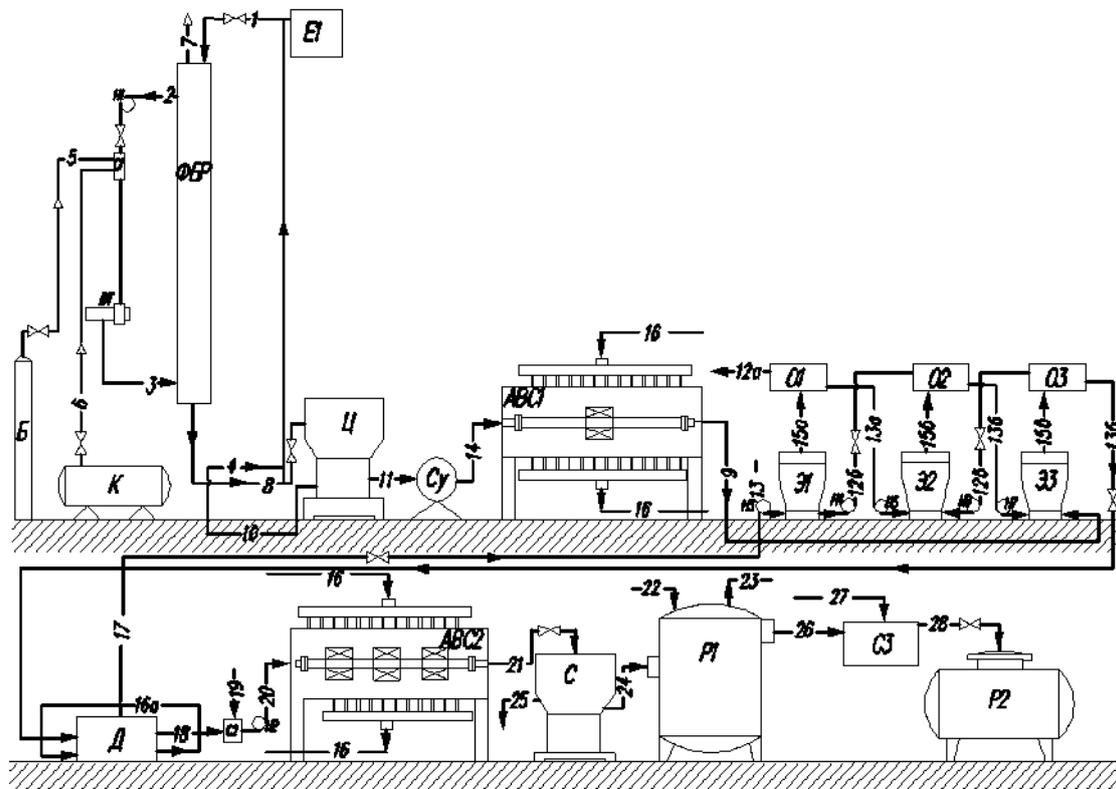


Рисунок 8 – Схема культивирования *Chlorella vulgaris* для получения биодизельного топлива

Верхняя часть схемы представляет собой подготовку суспензии хлореллы для получения триацилглицеринов. Нижняя часть представляет собой непосредственно синтез метиловых эфиров и получение дизельного смесового топлива.

Сточные воды 1 после аэротенков (Е1) направляются в фотобиореактор ФБР, где создаются оптимальные условия культивирования используемого штамма (суспензия микроводоросли 2-4 аэрируется газовоздушной смесью 5-7 с помощью компрессора К и баллона Б с углекислотой, поддерживается температура и освещенность). После культивирования биомасса 8, 11 на центрифуге Ц отделяется от жидкой фазы 10, которая может повторно смешиваться со сточными водами. Полученная сухая биомасса 9, 14 из Су сушильного аппарата подвергается экстракции в блоке экстракторов (Э1-Э3, О1-О3, 12, 13, 15, 17) потоки продуктов в экстракции) и предварительной дезинтеграции в ультразвуковом аппарате АВС. Извлеченное масло хлореллы 18 направляется в реактор для синтеза метиловых эфиров и получения конечного чистого продукта – биодизельного топлива 26, дизельного смесового топлива 28 (промежуточные продукты синтеза дизельного смесового топлива из липидов хлореллы 19-27).

Заключение. Установлено, что культивировать микроводоросль можно как на стандартных синтетических средах, так и на сточных водах в процессе их доочистки, что экономически оправдано. В обоих случаях рост микроводоросли хлорелла согласуется со стандартной S – образной кривой роста. Наибольший прирост наблюдался при освещенности в красном диапазоне (выше в 2 раза), минимальное значение в зеленом. Установлено, что при добавлении хлореллы в сточные воды наблюдается максимальное снижение содержания ионов аммония и фосфат-анионов на 6 -7 день (на 19-59% и 5-29% соответственно), что вероятнее всего связано с использованием микроводорослью этих элементов для питания и поддержания жизнедеятельности. В тоже время необходимы дополнительные исследования по изменению содержания других вредных веществ в сточных водах при культивировании хлореллы, например, нитритов, тяжелых металлов. Предложена схема выращивания *Chlorella vulgaris* на сточных водах для дальнейшего получения липидных компонентов биодизельного топлива.

Список источников

1. Ауджанова, В.К. Морфологические и систематические характеристики хлореллы. Ее производство и применение / В.К. Ауджанова // Научный вестник. – 2014. № 1(1). – С.113 – 126.
2. Упитис, В.В. Макро- и микроэлементы в оптимизации минерального питания микроводорослей [Текст]: монография / В.В. Упитис. – Рига: Зинатне. 1983. — 239 с.
3. Потенциал применения микроводорослей в качестве сырья для биоэнергетики / К. Н. Сорокина, В. А. Яковлев, А. В. Пилигаев [и др.] // Катализ в промышленности. – 2012. – № 2. – С. 63-72.
4. Ильинский, В.В. Оценка функциональной активности активного ила локально-очистного сооружения, действующего в условиях Арктического региона / В.В. Ильинский, Е.В. Крамаренко, Е.В. Макаревич // Вестник МГТУ. – 2017. – Т. 20. – № 1/2. – С. 157–164.
5. Богданов, Н. И. Биологическая реабилитация водоёмов / Н. И. Богданов; Пензенская государственная сельскохозяйственная академия. – 3-е издание, переработанное и дополненное. – Пенза: Пензенский государственный аграрный университет, 2008. – 126 с.
6. Перспективы использования культивируемых водорослей хлореллы при доочистке и обеззараживании сточных вод на очистных сооружениях / М. В. Карпов, О. В. Наумова, А. А. Жиздюк, А. А. Малышева // Аграрный научный журнал. – 2023. – № 1. – С. 150-154.
7. Исследование возможности использования микроводоросли *Chlorella vulgaris* в технологических процессах обеззараживания и доочистки сточных вод / Т. С. Король, Д. Ю. Мартынов, А. И. Новиченко [и др.] // Водоочистка. Водоподготовка. Водоснабжение. – 2017. – № 8(116). – С. 34-40.
8. Макарычева, О. В. Изучение влияния хлореллы на эффективность очистки ливневых сточных вод от автозаправочной станции / О. В. Макарычева, И. В. Антонов // Сборник научных трудов молодых ученых, аспирантов, студентов и преподавателей VII молодежного экологического Конгресса "Северная Пальмира", Санкт-Петербург, 22–24 ноября 2016 года. – Санкт-Петербург: Санкт-Петербургский научно-исследовательский центр экологической безопасности РАН, 2016. – С. 92-95.
9. Использование микроводоросли *Chlorella vulgaris* ИФР №с-111 для очистки сточных вод / И. В. Маркин, М. А. Еськова, А. С. Ситникова [и др.] // Крымская инициатива - Экологическая безопасность регионов: концептуально-теоретические, практические, природоохранные и мировоззренческие аспекты: Материалы I Всероссийской междисциплинарной научно-практической конференции, Симферополь, 05–07 октября 2017 года. – Симферополь: ООО «Эльинь», 2017. – С. 142-147.
10. Kothari, R. Experimental study for growth potential of unicellular alga *Chlorella pyrenoidosa* on dairy waste water: an integrated approach for treatment and biofuel production / R. Kothari, V.V. Pathak, V. Kumar, D.P. Singh // Bioresour. Technol. – 2012. – Vol. 116. – P. 466-470.
11. Rajalakshmi, M. Small scale photo bioreactor treatment of tannery wastewater, heavy metal biosorption and CO₂ sequestration using microalga *Chlorella* sp.: a biodegradation approach / M. Rajalakshmi, T. Silambarasan, R. Dhandapani. // Applied Water Science. – 2021. – Vol. 11:108.

References

1. Aujanova, V.K. Morphological and systematic characteristics of chlorella. Its production and application / V.K. Aujanova // Scientific Bulletin. – 2014. № 1(1). – Pp.113-126.
2. Upitis, V.V. Macro- and microelements in optimizing the mineral nutrition of microalgae [Text]: monograph / V.V. Upitis. – Riga: Zinatne. 1983. — 239 p.
3. The potential of using microalgae as raw materials for bioenergy / K. N. Sorokina, V. A. Yakovlev, A.V. Piligaev [et al.] // Catalysis in industry. - 2012. – No. 2. – pp. 63-72.
4. Piyinsky, V.V. Assessment of the functional activity of activated sludge of a local sewage treatment plant operating in the Arctic region / V.V. Piyinsky, E.V. Kramarenko, E.V. Makarevich // Bulletin of the Moscow State Technical University. - 2017. – Vol. 20. – No. 1/2. – pp. 157-164.
5. Bogdanov, N. I. Biological rehabilitation of reservoirs / N. I. Bogdanov; Penza State Agricultural Academy. – 3rd edition, revised and supplemented. – Penza: Penza State Agrarian University, 2008. – 126 p.

6. Prospects for the use of cultured chlorella algae in post-treatment and disinfection of wastewater at wastewater treatment plants / M. V. Karpov, O. V. Naumova, A. A. Zhizdyuk, A. A. Malysheva // Agrarian Scientific Journal. – 2023. – No. 1. - pp. 150-154.
7. Investigation of the possibility of using *Chlorella vulgaris* microalgae in technological processes disinfection and post-treatment of wastewater / T. S. Korol, D. Y. Martynov, A. I. Novichenko [et al.] // Water treatment. Water treatment. Water supply. – 2017. – № 8(116). – Pp. 34-40.
8. Makarycheva, O. V. Studying the effect of chlorella on the effectiveness of storm wastewater treatment from a gas station / O. V. Makarycheva, I. V. Antonov // Collection of scientific papers of young scientists, graduate students, students and teachers of the VII Youth Ecological Congress "Northern Palmyra", St. Petersburg, November 22-24, 2016. – St. Petersburg: St. Petersburg Scientific Research Center for Environmental Safety of the Russian Academy of Sciences, 2016. – pp. 92-95.
9. The use of microalgae *Chlorella vulgaris* IGF No.c-111 for wastewater treatment / I. V. Markin, M. A. Eskova, A. S. Sitnikova [et al.] // Crimean Initiative - Environmental safety of regions: conceptual, theoretical, practical, environmental and ideological aspects: Materials of the I All-Russian Interdisciplinary scientific and practical conference, Simferopol, 05-07 October 2017. – Simferopol: LL
10. Kothari, R. Experimental study for growth potential of unicellular alga *Chlorella pyrenoidosa* on dairy waste water: an integrated approach for treatment and biofuel production / R. Kothari, V.V. Pathak, V. Kumar, D.P. Singh // Bioresour. Technol. – 2012. – Vol. 116. – P. 466-470.
11. Rajalakshmi, M. Small scale photo bioreactor treatment of tannery wastewater, heavy metal biosorption and CO₂ sequestration using microalga *Chlorella* sp.: a biodegradation approach / M. Rajalakshmi, T. Silambarasan, R. Dhandapani. // Applied Water Science. – 2021. – Vol. 11:108.

Информация об авторах

Ю.В. Мещерякова - кандидат технических наук; С.А. Нагорнов - доктор технических наук, профессор.

Information about the authors

Yu. Meshcheryakova - Candidate of Technical Sciences; S. Nagornov - Doctor of Technical Sciences, Professor.

Вклад авторов все авторы сделали эквивалентный вклад в подготовку публикации.

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution of the authors: all authors have made an equivalent contribution to the preparation of the publication.

The authors declare no conflict of interest.

Поступила в редакцию (Received): 24.07.2024 Принята к публикации (Accepted): 25.08.2024