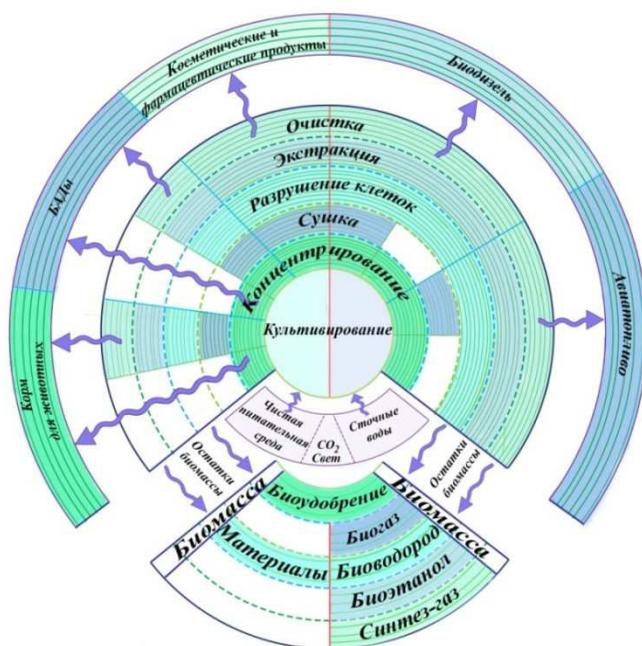


Д. С. ДВОРЕЦКИЙ, М. С. ТЕМНОВ,
Я. В. УСТИНСКАЯ, М. А. ЕСЬКОВА

ПЕРСПЕКТИВНЫЕ БИОТЕХНОЛОГИИ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ



Тамбов
Издательский центр ФГБОУ ВО «ТГТУ»
2022

Министерство науки и высшего образования Российской Федерации

**Федеральное государственное бюджетное образовательное
учреждение высшего образования
«Тамбовский государственный технический университет»**

**Д. С. ДВОРЕЦКИЙ, М. С. ТЕМНОВ,
Я. В. УСТИНСКАЯ, М. А. ЕСТЬКОВА**

ПЕРСПЕКТИВНЫЕ БИОТЕХНОЛОГИИ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ

Утверждено Учёным советом университета
в качестве учебного пособия для студентов 1 курса обучения
направления подготовки 19.04.01 «Биотехнология» очной формы
обучения, 2 – 4 курсов обучения направлений подготовки
19.03.01 «Биотехнология» очной формы обучения,
19.03.02 «Продукты питания из растительного сырья»
заочной формы обучения

Учебное издание



Тамбов
Издательский центр ФГБОУ ВО «ТГТУ»
2022

УДК 579.66

ББК 28.487

П26

Рецензенты:

Доктор технических наук, профессор,
главный научный сотрудник ФГБНУ ВНИИТиН
С. А. Нагорнов

Доктор технических наук, профессор,
профессор кафедры «Техника и технологии производства
нанопродуктов» ФГБОУ ВО «ТГТУ»
Е. Н. Туголуков

П26 Перспективные биотехнологии микроводорослей : учебное пособие / Д. С. Дворецкий, М. С. Темнов, Я. В. Устинская, М. А. Еськова. – Тамбов : Издательский центр ФГБОУ ВО «ТГТУ», 2022. – 128 с.

ISBN 978-5-8265-2492-3

Изложены основы методологии исследования (анализа) и совершенствования существующих, а также создания (синтеза) новых биотехнологических процессов и производств. Описаны методы проведения научных исследований и обработки их результатов для определения практической скорости биохимического процесса, составления материального и энергетического балансов производства, выбора оптимальных технологических схем и режимов, подбора технологического оборудования.

Предназначено для студентов 1 курса обучения направления подготовки 19.04.01 «Биотехнология» очной формы обучения, 2 – 4 курсов обучения направлений подготовки 19.03.01 «Биотехнология» очной формы обучения и 19.03.02 «Продукты питания из растительного сырья» заочной формы обучения, а также слушателей повышения квалификации преподавателей вузов и инженерно-технических работников, занимающихся проектированием, модернизацией и эксплуатацией биотехнологических производств.

УДК 579.66

ББК 28.487

ISBN 978-5-8265-2492-3 © Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Тамбовский государственный технический университет» (ФГБОУ ВО «ТГТУ»), 2022

ВВЕДЕНИЕ

Принцип рационального и устойчивого развития человечества, сформулированный Всемирной комиссией по окружающей среде и развитию в 1987 г., постулировал необходимость стремления к удовлетворению потребностей нынешнего поколения без ущерба для возможности будущих поколений удовлетворять свои собственные потребности [1]. Этому принципу в полной мере соответствует активно строящаяся в развитых странах экономика замкнутого цикла, призванная изменить классическую линейную модель производства (создание, пользование, захоронение отходов), концентрируясь на создании технологий и производств, которые минимизируют отходы и другие виды загрязнений.

Одним из активно развивающихся в последние десятилетия направлений, потенциально соответствующих требованиям экономики замкнутого цикла, является разработка технологий получения и использования микроводорослей и цианобактерий для решения широкого круга задач хозяйственной деятельности человека.

Микроводоросли – микроскопические водные организмы, трансформирующие световую энергию, воду и диоксид углерода в биохимическую энергию, необходимую для их роста через фотосинтез и хемосинтез [2]. Клетки микроводорослей способны накапливать значительное количество белка, углеводы, полярные и нейтральные липиды с богатым набором жирных кислот (ЖК), включая незаменимые омега-3 (ω -3) полиненасыщенные ЖК [3]. Эти организмы также способны синтезировать пигменты разных классов (каротиноиды, хлорофилл), витамины, стерины, антибиотики и токсины.

При этом они имеют более высокую эффективность фотосинтеза по сравнению с высшими растениями и гибкий метаболизм [4, 5]. Поэтому в последнее десятилетие резко возрос интерес учёных к исследованию возможностей использования микроводорослей для надёжного и прогнозируемого получения различных пищевых красителей, пищевых и кормовых добавок, компонентов для косметических продуктов, фармацевтических препаратов, биотоплива (биодизель, биоэтанол, биометан, авиатопливо [6], водород [7], синтез-газ [8]), биопластика, биосмазков, биоудобрений, а также их использования для очистки сточных вод и регенерации воздуха [9]. Учитывая, что в чистом виде исследователям доступно около 4600 видов микроводорослей, а промышленно культивируется лишь несколько десятков штаммов, биотехнологический потенциал микроводорослей остаётся ещё в значи-

тельной степени не исследованным [10]. Этот интерес подтверждается количеством публикаций в ведущих рецензируемых научных журналах. Несмотря на большое число работ, посвящённых вопросам поиска эффективных способов организации процессов получения ценных компонентов из микроводорослей, потенциал для их совершенствования остаётся значительным.

Большинство технологий получения ценных компонентов из микроводорослей включают следующие стадии: культивирование и концентрирование биомассы, разрушение клеточных стенок, извлечение (экстракция/экстрагирование) целевых компонентов. При поиске оптимальных путей организации этих стадий важно учитывать биологические особенности микроводорослей:

- характеристики органелл клетки конкретного штамма;
- интенсивность биохимических реакций и динамику их изменения при различных сочетаниях компонентов питательной среды и условий культивирования;
- тип ответной реакции на различные стрессовые воздействия и способность адаптации к ним;
- устойчивость к вредному влиянию посторонних микроорганизмов.

Хорошее понимание взаимосвязанности перечисленных особенностей имеет определяющее влияние на успешность поиска условий реализации последовательности технологических стадий и их масштабирование. Их количественный анализ целесообразно выполнять с использованием компьютерного моделирования, которое является мощным системным инструментом, повышающим эффективность процесса разработки технологических цепочек производства ценных компонентов из микроводорослей, область использования которого непрерывно расширяется [11]. Его корректное использование позволит более полно исследовать и использовать потенциал микроводорослей, сократить время разработки и оценки экономической эффективности новых технологий, а также будет способствовать их более широкому распространению.

Глава 1

ПРОДУКТЫ ИЗ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ

Фотоавтотрофные микроорганизмы обладают большим потенциалом для организации производств полезных веществ для различных областей применения: фармацевтики, производств пищевых добавок, кормовых добавок для животных и рыб, материалов и биоудобрений, биотоплива.

Для достижения экономической эффективности процессы промышленного производства продуктов из биомассы фотоавтотрофных микроорганизмов должны быть устойчивыми, гибкими, иметь низкие энергетические затраты и быть легко адаптируемыми к большому разнообразию исходных характеристик клеток. Перспективной целью является интеграция всех цепочек различных технологий биопереработки в непрерывную структуру (рис. 1.1), направленную на производство спектра продуктов, позволяющую извлечь максимальную прибыль от реализации всех ценных компонентов, находящихся в биомассе.

Клетки микроводорослей и цианобактерий способны накапливать значительное количество белка, углеводы, полярные и нейтральные липиды с богатым набором жирных кислот (ЖК), включая незаменимые полиненасыщенные ЖК (например, ω -3 и ω -6) [3]. Эти организмы также способны синтезировать пигменты разных классов (каротиноиды, хлорофилл), витамины, стерины, вторичные метаболиты, включая антибиотики и токсины. При этом они имеют более высокую эффективность фотосинтеза по сравнению с высшими растениями и гибкий метаболизм [2, 12].

На настоящем этапе развития отрасли большинство предприятий по биопереработке микроводорослей, как правило, сосредоточены на получении одного конкретного компонента из биомассы. Вследствие этого, разрабатываются технологии, оптимизированные для получения максимальной прибыли от реализации лишь этого вещества. При этом в базовой постановке задачи по разработке технологий целесообразно рассматривать вопрос о выращивании биомассы с таким соотношением целевых компонентов, которые можно эффективно извлечь современными методами в порядке убывания их стоимости. Интеграция нескольких смежных технологий в одном биокластере позволила бы более полно перерабатывать вторичные потоки производств продуктов с высокой добавленной стоимостью в технологиях нижних уровней, а также более эффективно использовать периодически работающее оборудование и снизить капитальные и энергетические затраты. При

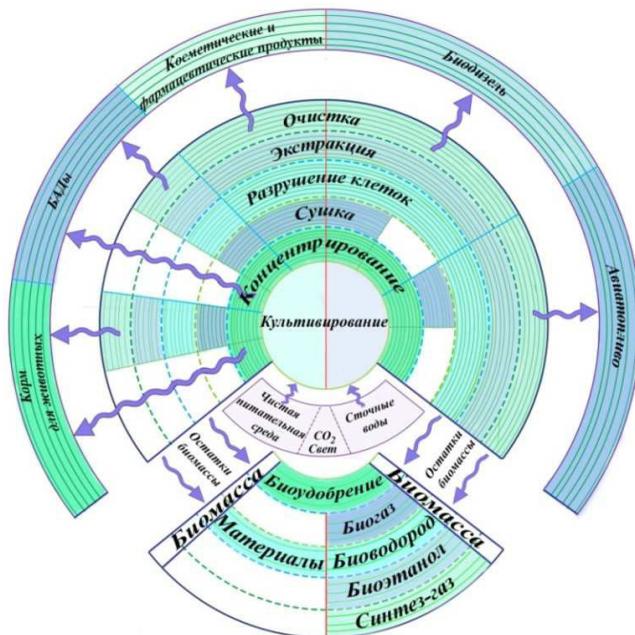


Рис. 1.1. Суперструктура интеграции биотехнологий микроводорослей и цианобактерий

этом в зависимости от поставленных целей для культивирования можно использовать как чистые питательные среды (для компактных производств продуктов с высокой добавленной стоимостью – блоки 1, 2, 3), так и различного вида отходы (для крупнотоннажных производств биотоплив, биоудобрений и пр. – блок 4).

Стоимость продуктов из микроводорослей и цианобактерий в большой степени будет зависеть от химического состава, количества нежелательных примесей и вида конечного продукта (суспензия, паста, порошок, гранулы).

Перспективно применение различных видов микроводорослей (табл. 1.1), исследованию которых посвящено наибольшее количество работ. Отбор видов и штаммов – важный шаг для биотехнологического производства с использованием фотоавтотрофных микроорганизмов.

Штаммы отбираются на основе целей культивирования и оцениваются по скорости роста, продукции биомассы и/или по содержанию ценных соединений.

Виды, подходящие для коммерческого применения, должны характеризоваться высокой продуктивностью биомассы для достижения устойчивого и рентабельного биотехнологического производства. Например, многообещающими видами микроводорослей для производства липидов и биофиксации CO₂ являются *Chlorella* и *Scenedesmus*.

Клетки микроводорослей содержат белки, витамины группы В, липиды, полисахариды, пигменты (табл. 1.2). Белки микроводорослей содержат все незаменимые аминокислоты. Как источник белка и витаминов микроводоросли используются в производстве пищевых добавок, кормах, а также в качестве удобрений и стимуляторов роста растений [5].

Липиды, содержащие омега-3 полиненасыщенные жирные кислоты, применяются в качестве нутрицевтиков и являются одним из основных ингредиентов в рационе питания человека [3]. Жирные кислоты используются для производства биодизеля [22, 29], а также при производстве альтернативного реактивного топлива из биомассы клеток [3]. Полисахариды микроводорослей находят применение в качестве косметических средств для ухода за кожей (экзополисахариды), для производства биоэтанола (внутриклеточный крахмал) [26]. Каротиноиды (β-каротин, астаксантин, лютеин) используются в качестве нутрицевтиков, в составе косметических средств, для обогащения кормов [14]. Жирные кислоты, полисахариды, белковые соединения и каротиноиды, выделяемые микроводорослями в процессе культивирования, обладают антибиотическим действием [30].

1.1. Области применения микроводорослей

| Вид микроводорослей | Фармацевтика | Косметика | Пища | Материалы | Корм | Удобрения | Биотопливо | Источники |
|------------------------|--------------|-----------|------|-----------|------|-----------|------------|--------------|
| <i>Nannochloropsis</i> | + | + | | | + | + | + | [13 – 19] |
| <i>Chlorella</i> | + | + | + | + | + | + | + | [20] |
| <i>Dunaliella</i> | + | | | | + | | | [21] |
| <i>Isochrysis</i> | + | | | | + | | | [14, 15] |
| <i>Phaeodactylum</i> | + | | | | | | | [22] |
| <i>Haematococcus</i> | + | + | | | + | | | [23] |
| <i>Cryptocodinium</i> | + | | | | | | | [24] |
| <i>Scenedesmus</i> | + | + | | + | | + | + | [18, 19, 25] |
| <i>Muriellopsis</i> | + | | | | | | | [20] |
| <i>Neochloris</i> | | | | + | | | | [26] |
| <i>Schizochytrium</i> | | | | | + | | | [19] |
| <i>Chlamydomonas</i> | | | | | | | | [27] |
| <i>Pavlova</i> | | | + | | | | | [28] |
| <i>Tetraselmis</i> | | | + | | | | | [3] |
| <i>Stichococcus</i> | | | + | | | | | [3] |

1.2. Содержание ценных компонентов в биомассе микроводорослей

| Вид продуктов | Вид микроводорослей | Концентрация | Источники |
|---------------------------------|------------------------|-----------------------------|-----------|
| Фармацевтические продукты | | % от сухой биомассы | |
| Эйкозопентаеновая кислота (ЭПК) | <i>Nannochloropsis</i> | 12,74 ± 1,84 | [32] |
| | <i>Isochrysis</i> | 12,74 ± 1,84 | [32] |
| | <i>Phaeodactylum</i> | от 22,4 ± 1,7 до 31,4 ± 1,7 | [33] |
| Докозагексаеновая кислота (ДГК) | <i>Cryptocodinium</i> | до 43,5 | [34] |
| Бета-каротин | <i>Chlorella</i> | 0,1...2,0 | [35] |
| | <i>Chlamydomonas</i> | 0,1...2,0 | [36] |
| | <i>Dunaliella</i> | до 14 | [37] |
| Астаксантин | <i>Haematococcus</i> | 3,8 | [38] |
| | <i>Chlorococcum</i> | 0,2 | [34, 39] |
| | <i>Neochloris</i> | 0,6 | [34, 39] |
| Косметические продукты | | г/л культуральной среды | |
| Полисахариды | <i>Chlorella</i> | 1,8 г/л | [34] |
| | <i>Botryococcus</i> | до 1,8 г/л | [34] |
| Пищевые добавки | | % от сухой биомассы | |
| Белки | <i>Chlorella</i> | 51...58 | [29] |
| Витамины | | мг/кг сухого веса | |
| Рибофлавин (B2) | <i>Pavlova</i> | до 50 | [38] |

Продолжение табл. 1.2

| Вид продуктов | Вид микроводорослей | Концентрация | Источники |
|---------------------------|---------------------|--------------|-----------|
| Пантотеновая кислота (B5) | <i>Tetraselmis</i> | 37,7 | [38] |
| Пиридоксин (B6) | <i>Stichococcus</i> | 17 | [38] |
| Кобаламин (B12) | <i>Chlorella</i> | 0,6 | [39] |
| | <i>Dunaliella</i> | 0,7 | [39] |

При производстве биометана из микроводорослей сбрасываются практически все макромолекулы, входящие в состав клетки (белки, липиды и углеводы) [31]. Природные полимеры (углеводы, белки), а также небольшие молекулы (дисахариды, жирные кислоты) микроводорослей являются исходным сырьем для производства биопластиков [25]. Клетки микроводорослей могут синтезировать водород в процессе биологического расщепления воды. Высокотемпературная газификация биомассы микроводорослей проводится для получения синтез-газа [22].

Цианобактерии также всё чаще рассматриваются как перспективное сырьё для производства веществ с высокой добавленной стоимостью (биотопливо, биопластики, косметические средства, фармацевтические компоненты) (табл. 1.3).

1.3. Области применения цианобактерий

| Вид цианобактерий | Фармацевтика | Косметика | Пища | Материалы | Корм | Удобрения | Биотопливо | Источники |
|------------------------------------|--------------|-----------|------|-----------|------|-----------|------------|-----------|
| <i>Synechocystis sp.</i> | | | | | | | + | [40] |
| <i>Synechococcus elongatus sp.</i> | | | | | | | + | [40] |

Продолжение табл. 1.3

| Вид цианобактерий | Фармацевтика | Косметика | Пища | Материалы | Корм | Удобрения | Биотопливо | Источники |
|----------------------------------|--------------|-----------|------|-----------|------|-----------|------------|--------------|
| <i>Anabaena sp.</i> | | | | | | + | + | [41] |
| <i>Synechococcus sp.</i> | | | | | | | + | [40, 41] |
| <i>Arthrospira</i> | + | + | + | + | + | | | [13] |
| <i>Nostoc</i> | + | + | + | + | + | + | | [13] |
| <i>Microcystis pulverana</i> | + | + | + | | | | | [42] |
| <i>Phormidium</i> | + | + | + | | | | | [43 – 47] |
| <i>Aphanizomenon</i> | + | + | + | + | + | | | [43 – 47] |
| <i>Aulosira</i> | | | | | | + | | [43 – 47] |
| <i>Calothrix</i> | | | | | | + | | [43 – 47] |
| <i>Plectonema</i> | | | | | | + | | [43 – 47] |
| <i>Lyngbya</i> | | | | | | + | | [43 – 47] |
| <i>Schizothrix</i> | | | | | | + | | [43 – 47] |
| <i>Oscillatoria</i> | | | | | | + | | [43 – 47] |

Одной из основных характеристик цианобактерий является быстрое поглощение и накопление питательных веществ и соединений, таких как фосфаты, цианофицин (полимер аспарагиновой кислоты и аргинина) и разветвленный α -1,4-полиглюкан. Некоторые из этих микроорганизмов могут продуцировать терапевтические соединения, такие как противовирусные соединения (фукоксантин), иммуномодуляторы (иммуностимуляторы, профилактические препараты, повышающие защиту организма от конкретной инфекции) [17, 42].

Контрольные вопросы

1. Перечислите основные подходы по утилизации углекислого газа.
2. Какими преимуществами по сравнению с традиционными методами улавливания углерода обладают фототрофные микроорганизмы?
3. Опишите химический состав клеток микроводорослей и цианобактерий, перечислите ценные компоненты биомассы фототрофных микроорганизмов.
4. Перечислите основные стадии получения ценных компонентов из биомассы фототрофных микроорганизмов.
5. В каких областях промышленности применяются фототрофные микроорганизмы?
6. Какие перспективные виды микроводорослей и цианобактерий используются для коммерческого применения?

Глава 2

ОСОБЕННОСТИ УСТРОЙСТВА И ЖИЗНЕДЕЯТЕЛЬНОСТИ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ И ЦИАНОБАКТЕРИЙ

2.1. МОРФОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ. ОСОБЕННОСТИ ВИДОВ

Микроводоросли – эукариотические микроорганизмы, трансформирующие световую энергию, воду и диоксид углерода в биохимическую энергию, необходимую для их роста через фотосинтез и хемосинтез [48]. Химический состав клеток микроводорослей зависит от условий культивирования и может варьироваться в широком диапазоне. При выращивании на обычных минеральных средах в сухой биомассе содержится 40...55% белка, 35% углеводов, 5...10% липидов, до 10% минеральных веществ. Изменяя химический состав питательной среды, можно воздействовать на метаболизм клеток и получать целевые продукты в большей концентрации. Согласно данным современных исследований, хорошо адаптируются к изменяющимся условиям окружающей среды микроводоросли рода *Chlorella*, *Botryococcus*, *Scenedesmus* [48], но при этом представители рода *Chlorella* обладают самыми хорошими показателями скорости накопления биомассы. Так же клетки этого рода микроорганизмов обладают исключительной способностью к адаптации при изменении условий культивирования, высоким содержанием ценных компонентов и «пластичным» метаболизмом [4, 48].

Клеточные стенки микроводорослей могут сильно различаться по строению, но чаще всего содержат следующие полимеры: целлюлоза, гемицеллюлоза (ксилоглюкан, маннан, глюкуроан, (1 → 3)-β-глюкан), хитиноподобный пептидогликан и ульван [49 – 52]. Существуют различные исследования характеристик видов микроводорослей, представляющих коммерческий интерес. К ним относятся, например, *Chlorella sorokiniana*, *Chlorellavulgaris*, *Nannochloropsis* sp., *Phaeodactylumtricornutum* [53, 54] и другие виды – *Dunaliellasalina* [55], *Haematococcuspluvialis* [56, 57] и *Scenedesmusalmeriensis* [58] (табл. 2.1).

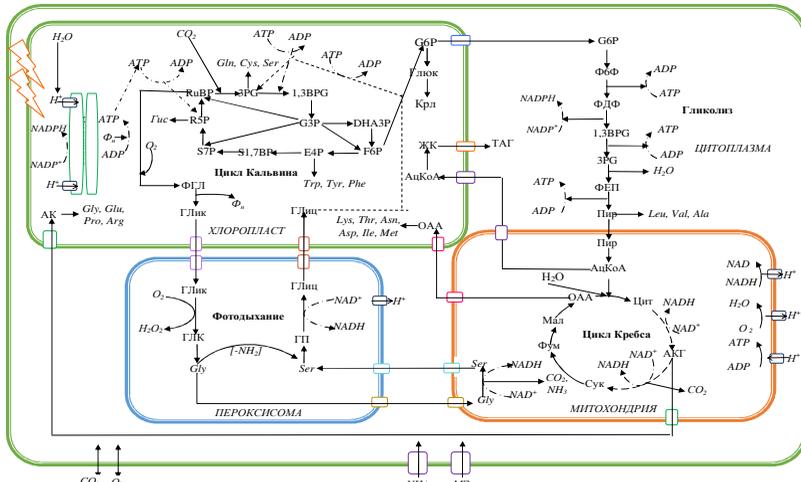
2.1. Сравнение состава различных видов микроводорослей [59, 60]

| Виды микроводорослей | Белки, % | Липиды, % | Углеводы, % | Максимальная производительность (г/л/сут) |
|----------------------------------|----------|-----------|-------------|---|
| <i>Chlorella sorokiniana</i> | 56 | 22 | 17 | 1,160 |
| <i>Chlorella vulgaris</i> | 51...58 | 14...22 | 12...17 | 1,870 |
| <i>Dunaliella salina</i> | 57 | 6 | 32 | 0,224 |
| <i>Haematococcus pluvialis</i> | 48 | 15 | 27 | 0,157 |
| <i>Scenedesmus sp.</i> | 50...56 | 10...52 | 12...14 | 0,110 |
| <i>Chlamidomonas reinhardtii</i> | 48 | 21 | 17 | 0,100 |
| <i>Chlorella pyrenoidosa</i> | 57 | 2 | 26 | 0,115 |

2.2. АНАЛИЗ ОСНОВНЫХ БИОХИМИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ В КЛЕТКАХ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ, ЗАВИСЯЩИХ ОТ СОДЕРЖАНИЯ УГЛЕРОДА В ПИТАНИИ

Для жизнедеятельности клеток микроводорослей необходимо устойчивое протекание взаимосвязанных метаболических процессов (рис. 2.1).

Эволюция хлоропластов позволила фотосинтетическим микроорганизмам развиваться в биофабрики, потребляющие CO₂, которые производят широкий спектр органических соединений. Светозависимые и светонезависимые реакции работают синхронно для достижения фотосинтетической ассимиляции CO₂ в клетках [61]. Эти реакции протекают в хлоропластах микроводорослей, органеллах с двухслойной мембраной, содержащей тилакоиды и строму. Тилакоиды представляют собой дискообразные мешочки, которые окружены жидким матриксом стромы. Светозависимые реакции происходят в мембранах тилакоидов, чтобы обеспечить необходимую энергию для CO₂ биофиксации во время светонезависимых реакций [62].



RuBP – рибулозо-1,5-дифосфат; 3PG – 3-фосфоглицерат; 1,3BPG – 1,3-дифосфоглицерат; G3P – глицеральдегид-3-фосфат; ДНАЗР – дегидроксиацетон-3-фосфат; F6P – фруктозо-6-фосфат; G6P – глюкозо-6-фосфат; E4P – эритрозо-4-фосфат; S7P – седогептулозо-7-фосфат; S1,7BP – седогептулозо-1,7-дифосфат; R5P – рибозо-5-фосфат; ФГЛ – 2-фосфоглицерат; Глик – гликолат; Глиц – глицерат; Глюк – глюкоза; Крп – крахмал; ГП – гидроксибутират; ГЛК – гликолизат; Глиц – глицин; Ser – серин; Gln – глутамин; Glu – глутамат; Pro – пролин; Arg – аргинин; Lys – лизин; Trp – триптофан; Tyr – тирозин; Asn – аспарагин; Asp – аспарат; Ile – изолейцин; Met – метионин; Cys – цистеин; Thr – треонин; Phe – фенилаланин; Leu – лейцин; Val – валин; Ala – аланин; ФДФ – фруктозо-1,6-бисфосфат; 1,3BPG – 1,3-дифосфоглицерат; 3PG – 3-фосфоглицерат; ФЕП – фосфоенолпируват; Пир – пируват; АцКоА – ацетилКоА; Цит – цитрат; АКГ – α-кетоглутарат; Сук – сукцинат; Фум – фумарат; Мал – малат; ОАА – оксалоацетат; ЖК – жирные кислоты; ТАГ – триглицериды; МЭ – микроэлементы.

Рис. 2.1. Схема основных метаболических путей в клетке микроводоросли

Преобразования энергии при фиксации углерода микроводорослями можно разделить на три этапа:

- 1) получение энергии;
- 2) преобразование энергии;
- 3) использование энергии.

Этап получения энергии. Фотосинтетические пигменты поглощаются, и световая энергия передается молекулам хлорофилла в реакционном центре. С помощью хлорофилла фотосинтез преобразует солнечную энергию в энергию, необходимую для химических реакций, стимулируя реакцию воды и CO₂ с образованием глюкозы и полисахаридов [63]. Биохимический механизм фотосинтеза в значительной степени выяснен и охарактеризован циклом фотосинтетического восстановления углерода, названным циклом Кальвина–Бенсона. Захваченная световая энергия преобразуется в химическую энергию АТФ на тилакоидной мембране с помощью ФС I (фотосинтетическая система I) и ФС II (фотосинтетическая система II), цитохрома *b6/f* и АТФ-синтазы. Энергия, необходимая для синтеза АТФ, получается из потенци-

альной энергии градиента концентрации протонов с обеих сторон клеточной мембраны, который перемещает протоны через клеточную мембрану, способствуя синтезу АТФ. При высокой концентрации CO_2 окисление НАД(Ф)Н усиливается, что способствует переносу протонов из цитоплазмы и увеличивает концентрацию протонов с обеих сторон мембраны [64]. Цитохром *b6/f* является важным комплексом для переноса электронов между ФС I и ФС II, а высокие концентрации CO_2 могут значительно способствовать сжатию белковой субъединицы железо–сера, что приводит к повышению эффективности переноса электронов.

Этап преобразования энергии. Энергия, заключенная в АТФ и НАД(Ф)Н, используется для преобразования CO_2 в продукты фотосинтеза. Преобразование энергии в основном относится к потреблению глюкозы в дыхательном процессе (процесс биологического окисления), преобразованию АТФ в АДФ (аденозиндифосфата) в митохондриях и производству свободной энергии ΔG [61]. АТФ является прямым донором энергии микроводорослей, которая постоянно вырабатывается и потребляется [65].

Этап использования энергии. Свободная энергия, генерируемая преобразованием АТФ в АДФ, существует в клетках в основном в форме химической энергии. Химическая энергия в биосинтезе – основная форма энергии в процессе фиксации углерода микроводорослями [62].

Выделяют три способа культивирования микроводорослей:

- 1) автотрофный (в качестве источника энергии используется свет);
- 2) гетеротрофный (с добавлением источников органического углерода);
- 3) миксотрофный (в дополнение к барботированию CO_2 в среду добавляют источник органического углерода) [66].

При автотрофном культивировании биосинтез углеводов инициируется фиксацией CO_2 через цикл Кальвина рибулозо-1,5-бисфосфат-карбоксилазой оксигеназой (Рубиско). Продукт глицеральдегид-3-фосфат (G3P), полученный из 3-фосфоглицеральдегида, впоследствии катализируется в моносахариды (глюкоза), которые затем превращаются в полисахариды (целлюлоза и крахмал) [67]. При гетеротрофном и миксотрофном культивировании путь образования G3P зависит от источника органического углерода. При использовании в качестве сырья глюкозы, G3P образуется в процессе гликолиза.

Аминокислоты, основной компонент белков, синтезируются из пяти промежуточных продуктов гликолиза и цикла лимонной кислоты. G3P действует как исходный субстрат для 20 аминокислот, синтези-

руемых в цитоплазме, хлоропластах, митохондриях и пероксисомах. Впоследствии 3-фосфоглицериновая кислота превращается в серин, цистеин и глицин, фосфоенолпируват – в фенилаланин, триптофан и тирозин, пируват – аланин, валин и лейцин, оксалоацетат – в аспартат, аспарагин, лизин, метионин, треонин и изолейцин, α -кетоглутарат – в глутамат, глутамин, гистидин, пролин и аргинин. Белки синтезируются на рибосомах и составляют 42...58% сухой биомассы клетки, из которых около 20% входят в состав клеточной стенки, 50% – ферменты, а оставшиеся 30% секретируются во внеклеточную среду [68].

Первой стадией биосинтеза липидов является синтез жирных кислот из ацетил-КоА, полученного из пирувата (продукт *G3P*). Позже свободные жирные кислоты превращаются в триглицериды в эндоплазматическом ретикулуме или хлоропластах [69]. Биосинтез каротиноидов инициируется изопентенилпирофосфатом (ИПП) и его изомером диметилаллилдифосфатом [70].

2.3. МОРФОЛОГИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ ЦИАНОБАКТЕРИЙ. АНАЛИЗ ОСНОВНЫХ БИОХИМИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ, ПРОТЕКАЮЩИХ В КЛЕТКАХ

Прокариотические микроводоросли – цианобактерии. Подобно грамотрицательным бактериям клеточная стенка цианобактерий состоит из плазматической мембраны, слоя пептидогликанов и внешней мембраны, однако строение клетки цианобактерий сложнее, чем у других прокариот. Одной из существенных особенностей, отличающих их от большинства других групп бактерий, является способность осуществлять фотосинтез. Большинство видов цианобактерий содержат массив внутренних тилакоидных мембран, содержащих взаимосвязанную дыхательную и фотосинтетическую цепь переноса электронов. Цианобактерии осуществляют как процесс фотосинтеза в тилакоидных мембранах, так и процесс аэробного дыхания в цитоплазме и в тилакоидных мембранах, за исключением представителей рода *Gloeobacter*, у которых есть только цитоплазматическая мембрана [71].

Наиболее важными цианобактериями, используемыми в биотехнологии, являются *Spirulina (Arthrospira) platensis*, *Nostoc commune* и *Aphanizomenon flosaquae* [72]. *Arthrospira platensis* и *Arthrospira maxima* служат хорошо усваиваемым дополнительным источником высококачественных белков, витаминов, минералов и незаменимых жирных кислот. Например, *Arthrospira* состоит на 24% из углеводов, 51...71% белков, 8% липидов, считается богатым источником рибофлавина, тиамина, бета-каротина и витамина В₁₂ и доступна на рынке в виде капсул, гранул, порошка и таблеток. Клеточная стенка *Arthrospira* со-

стоит из четырёх слоёв, состоящих из белковых нитей. Ближе к клеточной мембране расположены пептидогликансодержащий слой и фибриллярный. Толщина всех слоёв варьируется в диапазоне от 10 до 15 нм, и, следовательно, толщина цельной клеточной стенки составляет 60 нм [72]. Так как *Arthrospira* не обладают целлюлозной клеточной стенкой, следовательно, белки из клеток данных микроорганизмов обладают более высокой усвояемостью.

Центральный метаболизм цианобактерий включает цикл Кальвина–Бенсона, различные варианты гликолитических путей и цикл трикарбонных кислот (цикл Кребса). Вклад углерода в центральный метаболизм может быть получен в результате фиксации углерода в виде CO_2 , путём импорта глюкозы или катаболизма гликогена (при избытке сахаров) [73]. Способность импортировать глюкозу позволяет некоторым цианобактериям, включая некоторые штаммы *Synechocystis*, расти гетеротрофно или миксотрофно.

В светонезависимой фазе фотосинтеза (цикл Кальвина–Бенсона) энергия химических связей, образующихся во время световой фазы (АТФ и НАД(Ф)Н), используется для синтеза органических соединений в ходе фиксации неорганического углерода. Ключевой фермент рибулозобисфосфаткарбоксилазы/оксигеназы (РубисКО) катализирует добавление одной молекулы CO_2 к одной молекуле рибулозо-1,5-бисфосфата – главного акцептора CO_2 при его фиксации для получения двух молекул глицеральдегид-3-фосфата – ключевого метаболита, участвующего в процессах аэробного дыхания и регенерации рибулозо-1,5-бисфосфата.

Гликолитические пути метаболизма цианобактерий включают: путь Эмбдена–Мейергофа–Парнаса (гликолиз), пентозофосфатный путь окисления углеводов (через промежуточный продукт рибулозо-5-фосфат, который превращается в глицеральдегид-3-фосфат) и путь Энтнера–Дудорова (этот путь позволяет превращать глюкозу в промежуточный 6-фосфоглюконат, который затем превращается в глицеральдегид-3-фосфат). Все они позволяют получить АТФ, НАД(Ф)Н для синтеза аминокислот, нуклеотидов и жирных кислот. Многочисленные гликолитические пути цианобактерий различаются по количеству молекул АТФ и НАД(Ф)Н, которые они производят на молекулу катаболизированной глюкозы, в диапазоне от 1 до 2,33 для АТФ и от 0 до 5,33 для НАД(Ф)Н. Эти пути позволяют цианобактериям быстро реагировать на изменения энергии, поступающей от солнечного света и/или органических соединений [74]. Цикл трикарбонных кислот у цианобактерий осуществляется с образованием сукцината – важного донора электронов для окислительного фосфорилирования.

Качественный и количественный состав потенциально-ценных продуктов (углеводов, белков, липидов и пигментов) зависит от особенностей генома, способа культивирования, а также фазы роста клеток.

Контрольные вопросы

1. Какие морфологические различия существуют у микроводорослей и цианобактерий?
2. Перечислите этапы преобразования энергии при фиксации углерода микроводорослями.
3. Опишите способы культивирования фототрофных микроорганизмов.
4. Какие основные продукты образуются в цикле Кальвина–Бенсона в процессе светонезависимой фазы фотосинтеза?
5. Перечислите гликолитические пути цианобактерий.
6. Какой ключевой фермент катализирует первую реакцию цикла Кальвина–Бенсона в процессе фотосинтеза?

Глава 3

ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ НА СКОРОСТЬ ПРОТЕКАНИЯ БИОХИМИЧЕСКИХ ПРОЦЕССОВ И СОСТАВ ЦЕННЫХ ВЕЩЕСТВ В КУЛЬТИВИРУЕМОЙ БИОМАССЕ

3.1. ПОТЕНЦИАЛЬНЫЕ СПОСОБЫ ИЗМЕНЕНИЯ ИНТЕНСИВНОСТИ И ЭФФЕКТИВНОСТИ ПРОТЕКАНИЯ ПРОЦЕССОВ ЖИЗНЕДЕЯТЕЛЬНОСТИ ФОТОАВТОТРОФНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ ПРИ РАЗЛИЧНЫХ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ УСЛОВИЯХ

Интенсивность протекания процессов жизнедеятельности микроводорослей и цианобактерий зависит от комбинации различных условий роста клеток микроорганизмов: температуры, pH, интенсивности и длины световых волн, состава и количества питательных веществ.

Температура рассматривается как один из критических факторов для роста микроорганизмов и биохимического состава клеток. При повышенных и пониженных относительно оптимальной температурах наблюдается снижение физиологической активности за счёт изменения вязкости цитоплазмы, текучести и проницаемости мембран, ферментативной активности, ингибирования процессов репликации, транскрипции и трансляции [69]. Большинство видов микроводорослей и цианобактерий лучше всего растут при оптимальной температуре от 15 до 30 °С (для микроводорослей) и от 20 до 35 °С (для цианобактерий) [75]. Значительное повышение температуры за пределы диапазонов отрицательно влияет на многие аспекты роста и метаболизма микроорганизмов: эффективность поглощения и использования питательных веществ, активность ферментов и скорость фиксации CO₂. В недавнем исследовании скорость фиксации CO₂ *Arthrospira sp.* увеличилась с 25,5 до 51,3 г/(м²·в сутки), когда температура культивирования была повышена с 23,8 до 33 °С, но впоследствии снизилась до 39,0 г/(м²·в сутки) при дальнейшем повышении температуры до 38 °С [76]. Кроме того, растворимость CO₂ снижается при температурах выше 20 °С.

Кислотность (pH) культур очень важна, так как pH определяет доступность CO₂ и питательных веществ для микроводорослей и цианобактерий, что сильно влияет на метаболизм микроорганизмов. При низких значениях pH (<5) существует высокая концентрация катионов H⁺, растворённых в воде, что приводит к образованию угольной кислоты. При высоких значениях pH (>11) концентрация того же катиона в

культуральной среде низкая, и реакция имеет тенденцию к образованию карбоната, что ограничивает доступность CO_2 и, следовательно, подавляет рост клеток и производство биомассы [74]. Оптимальный рН для производства биомассы варьируется для каждого вида в узком диапазоне и обычно зависит от штамма [77].

Свет является решающим фактором для роста клеток и накопления метаболитов в клетках микроорганизмов. В условиях высокой освещённости основную массу клеток составляют липиды и углеводы [69]. Содержание каротиноидов, таких как β -каротин и зеаксантин, также значительно повышается в условиях высокой освещённости.

Клетки микроводорослей и цианобактерий культивируются и усваивают азот, серу, фосфор, калий и другие минеральные элементы в виде ионов минеральных солей (NO_3^- , SO_4^{2-} , PO_4^{3-} , K^+ и др.) и используют их для синтеза внутриклеточных и внеклеточных метаболитов: аминокислот, белков, липидов, жирных кислот, нуклеиновых кислот, АТФ, алкалоидов, терпенов, фенольных соединений, различных витаминов, фитогормонов. Относительный их состав зависит от видов и условий роста [78].

Синтез органических соединений за счёт процесса фотосинтеза – основной способ питания микроводорослей, при этом данные микроорганизмы способны легко переключаться в определённых условиях с фотоавтотрофного способа питания на ассимиляцию различных органических соединений и осуществлять гетеротрофный или фотогетеротрофный тип питания, либо сочетать эти способы питания с фотосинтезом [4, 5, 48, 79, 80]. Способность клеток микроводорослей усваивать органические вещества в процессе гетеротрофного питания зависит от генетических свойств вида, например, для большинства микроводорослей *Chlorella* наилучшим источником углерода является глюкоза. При этом важно учитывать, что гетеротрофный тип питания клеток микроводорослей в темноте обеспечивает значительно более медленный рост, чем автотрофный рост на свету. При использовании освещения и питательных сред с глюкозой для культивирования микроводорослей, но без подачи углекислого газа, наблюдается повышение скорости роста клеток и усвоения глюкозы. Обеспечение же клеток микроводорослей углекислым газом позволяет клеткам перейти к миксотрофному типу питания: скорость роста клеток микроводорослей, которые культивируются при таких условиях, превышает их скорость роста при автотрофном питании [79].

Углерод является основным элементом большинства метаболитов микроводорослей и цианобактерий. При автотрофном культивировании источником углерода является CO_2 . При высокой концентрации

CO₂ увеличивается содержание липидов за счёт уменьшения содержания белков и углеводов [81]. Азот в основном потребляется микроорганизмами в виде катионов аммония или нитрат-анионов. Накопление белков увеличивается при достаточном содержании азота, в то время как содержание углеводов, липидов, каротиноидов увеличивается при истощении питательной среды азотом. Когда количество минерального азота ниже, чем требуется для максимальной биосинтетической активности клеток, азот становится лимитирующим элементом. На молекулярном уровне азотное лимитирование представляет собой контроль экспрессии фотосинтетических генов на уровне трансляции: нехватка азота для синтеза аминокислот → снижение концентрации аминокислот → снижение трансляции иРНК → уменьшение синтеза белков → повышение содержания углеводов и (или) липидов. В качестве источника фосфора клетки способны потреблять ионы ортофосфатов. При его недостатке наблюдаются замедление ассимиляции и прекращение накопления запасных веществ (липиды и углеводы). Благодаря тому, что уровень восстановленности фосфора в фосфатах и органических молекулах одинаков, фосфаты могут быть напрямую включены в предшественники нуклеиновых кислот, углеводы и углеродные скелеты без передачи электронов. Лимитирование фотосинтеза недостатком фосфора происходит в следующем порядке:

1) ограничение синтеза нуклеиновых кислот. Проявляется на уровне репликации генома или на уровне синтеза иРНК – контроль экспрессии на уровне транскрипции. Ведёт к уменьшению эффективности улавливания и использования световой энергии из-за снижения скорости синтеза белков фотосинтетического аппарата;

2) более быстрый отклик микроорганизмов на фосфорное лимитирование проявляется в снижении скорости синтеза и регенерации субстратов в цикле Кальвина. Скорость утилизации световой энергии в процессах фиксации углерода существенно снижается. Сера потребляется микроводорослями и цианобактериями в виде сульфатов. При недостаточном количестве данного элемента уменьшается количество аминокислот, жирных кислот, витаминов (тиамин и биотин) [82].

3.2. ТРЕБОВАНИЯ К УПРАВЛЕНИЮ ПРОЦЕССОМ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ И ЦИАНОБАКТЕРИЙ

Биомасса микроводорослей и цианобактерий активно использует CO₂ в процессе автотрофного роста в качестве предшественника для множества макромолекул, метаболитов и других биохимических соединений, включая липиды, белки, полисахариды, пигменты, целлю-

лозу, РНК (рибонуклеиновая кислота) и ДНК (дезоксирибонуклеиновая кислота) [83]. Поскольку углерод является наиболее распространенным элементом в биомассе микроводорослей [84], при использовании света в качестве источника энергии автотрофные микроорганизмы на выходе производят биомассу и кислород. На каждую тонну биомассы микроводорослей требуется до 2 т углекислого газа, 0,1 т водорода, 0,010 т фосфора и 0,015 т калия, при этом во время процесса также выделяется до 2 т кислорода [85]. Выделенный кислород может накапливаться до высоких концентраций, что отрицательно сказывается на продуктивности биомассы, подавляя рост клеток микроводорослей. Основные процессы, которые могут происходить при высокой концентрации растворённого кислорода, связывают с фотодыханием, реакцией Мелера и фотоингибированием [86].

Увеличение выбросов CO_2 в атмосферу провоцирует экологический кризис, поскольку CO_2 считается основной причиной парникового эффекта и, следовательно, глобального потепления. Постоянный поиск эффективных систем для улавливания CO_2 выявил потенциал культур микроводорослей и цианобактерий для выполнения этой задачи. Микроводоросли и цианобактерии являются фотосинтетическими микроорганизмами, способными поглощать CO_2 как из атмосферы, так и из выбросов дымовых газов, трансформируя их в биомассу или другие органические соединения. Одним из важных преимуществ данных микроорганизмов является то, что они демонстрируют более высокие удельные темпы роста и продуктивность биомассы, чем другие фотосинтетические организмы, такие как наземные растения. Кроме того, улавливание CO_2 во время автотрофного роста фотосинтетических микроорганизмов означает, что этот процесс можно комбинировать с другими процессами, связанными с их ростом, такими как очистка сточных вод, производство биомассы, биотоплива и/или различных ценных соединений. Помимо экологических преимуществ использования микроводорослей и цианобактерий для улавливания CO_2 , возможность объединения нескольких процессов также обеспечивает экономическое преимущество, например затраты, связанные с производством биомассы и улавливанием CO_2 можно преодолеть за счёт производства представляющих интерес соединений с высокой добавленной стоимостью. Способность микроводорослей и цианобактерий утилизировать CO_2 из дымовых газов и уменьшать количество углерода, выбрасываемого в атмосферу, является привлекательной идеей. Однако при повышенных концентрациях CO_2 (более 5%) рН культуральной среды может снизиться до 5 и ниже из-за образования большого количества бикарбонатного буфера. Принимая во внимание, что дымовой

газ обычно содержит от 3 до 30% CO_2 , крайне важно определить штаммы, способные расти при высоких концентрациях CO_2 . Дымовые газы состоят из CO_2 , водяного пара, NO_x , SO_x и тяжёлых металлов, таких как никель, ванадий и ртуть [87]. Некоторые исследователи утверждают, что присутствие NO_x в дымовых газах практически не представляет проблемы для роста микроводорослей, в то время как трудности возникают в присутствии SO_x , который снижает pH из-за образования сернистой кислоты [87].

Хотя микроводоросли и цианобактерии обладают большим потенциалом для улавливания CO_2 из атмосферы и выбросов дымовых газов, низкая диффузия CO_2 в культуральной среде приводит к плохому массопереносу в фотобиореакторах для культивирования микроводорослей и, соответственно, к низкой эффективности улавливания CO_2 . В связи с этим требуется оптимизировать производство высокоценных продуктов из биомассы этих микроорганизмов. Для улучшения диффузии CO_2 в культуральной среде можно использовать различные подходы:

- оптимизация существующих фотобиореакторов для улучшения массопереноса CO_2 ;
- разработка и тестирование новых фотобиореакторов;
- оценка влияния различных параметров на диффузию CO_2 микроводорослями [88].

Для снижения затрат, связанных с производством биомассы микроводорослей и цианобактерий, такие процессы, как улавливание CO_2 , очистка сточных вод и получение продуктов с высокой добавленной стоимостью из биомассы микроводорослей в товарные продукты, должны быть объединены для получения устойчивого и экономически выгодного процесса. Несколько ключевых факторов влияют на эффективность фотосинтеза микроводорослей и усвоение CO_2 , включая тепло, свет и массообмен CO_2 и питательных веществ. В этом отношении физико-химические факторы (например, pH, температура, солёность, мутность), свойства дымовых газов (например, концентрация CO_2 , температура, токсичные соединения), интенсивность освещения, конструкция фотобиореактора и выбор видов микроводорослей значительно влияют на биофиксацию CO_2 .

Контрольные вопросы

1. Перечислите факторы, влияющие на интенсивность протекающих процессов жизнедеятельности микроводорослей и цианобактерий.
2. Назовите интервалы оптимальных температур для роста микроводорослей и цианобактерий.

3. При каких оптимальных значениях pH осуществляется культивирование биомассы микроводорослей и цианобактерий?

4. Какие основные макро- и микроэлементы необходимы для питания микроводорослей и цианобактерий?

5. Перечислите отличия автотрофного и гетеротрофного способов питания микроводорослей и цианобактерий.

6. Какие основные процессы могут происходить при высокой концентрации растворённого кислорода у фототрофных микроорганизмов в процессе фотосинтеза?

Глава 4

ПОДХОДЫ К МАТЕМАТИЧЕСКОМУ МОДЕЛИРОВАНИЮ ПРОЦЕССОВ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ И ЦИАНОБАКТЕРИЙ

Несмотря на привлекательность использования микроводорослей для производства полезных продуктов, их потенциал в значительной мере остаётся нераскрытым. Перспективным подходом при поиске экономически эффективных способов организации и ускорения процесса разработки таких производств является использование средств компьютерного моделирования на всех стадиях: предварительных научных исследований в лабораторных условиях, масштабирования процессов при проведении опытно-конструкторских и проектных работ. Рассмотрим известные подходы к моделированию процесса культивирования микроводорослей и цианобактерий.

4.1. КИНЕТИЧЕСКИЕ МОДЕЛИ РОСТА

Моделирование и оптимизация систем культивирования является сложной задачей из-за регулирующих клеточный рост факторов, ограничивающих рост. Ростовые процессы в микроводорослях основаны на одновременном взаимодействии нескольких макроэлементов (например, углерода (C); азота (N); фосфора (P)), микроэлементов (например, железа (Fe); цинка (Zn); магния (Mg) и др.), факторов окружающей среды (интенсивность света (I); температура (T)) и продуктов метаболизма [89 – 92]. Кроме того, основываясь на механизме ассимиляции углерода, рост микроводорослей может быть автотрофным (рост на свету с использованием неорганического CO_2), гетеротрофным (рост в темноте с использованием органических источников углерода) или миксотрофным (рост на свету с использованием органических источников углерода) [93].

Макроскопические модели (ещё называемые «чёрным ящиком» [94]), которые надёжно описывают взаимосвязь между кинетикой роста микроводорослей и накоплением крахмала и липидов (т.е. выходы модели) в ответ на любой ограничивающий рост фактор (т.е. входы модели), могут помочь предсказать, каким будет результат разных режимов культивирования без необходимости проведения большого количества дорогостоящих и трудоёмких экспериментальных исследований. Поэтому модели могут стать полезными инструментами при оп-

тимизации биопроцессов для определения условий культивирования, которые дают наибольшую эффективность производственной системы, производящей биомассу. Важно отметить, что кинетические модели роста должны быть надлежащим образом подтверждены с помощью детальных экспериментальных исследований, проведённых в статических или динамических режимах [95].

Известны различные кинетические модели роста, которые были использованы для описания систем культивирования микроводорослей, их контроля и оптимизации производительности по биомассе, липидам и/или крахмалу в различных питательных средах (субстратах) при разных условиях окружающей среды (доступность углерода и питательных веществ, интенсивность света, температура, количество и состав микроэлементов, концентрации растворённых CO_2 и O_2 , ингибирующих веществ [96 – 101]). Эти кинетические модели могут быть условно разделены на модели с одним и несколькими субстратами. Модели с одним субстратом учитывают влияние только одного фактора ограничения роста. Модели с несколькими субстратами рассматривают влияние от совместного действия двух или более факторов, что приводит к необходимости использования более сложных математических формулировок.

4.1.1. КИНЕТИЧЕСКИЕ МОДЕЛИ РОСТА МИКРОВОДОРОСЛЕЙ ПО ОДНОМУ СУБСТРАТУ

Скорость роста микроводорослей зависит от воздействия на клетки условий питания и условий окружающей среды. Концентрация клеток увеличивается с течением времени, поскольку питательные вещества в среде расходуются в сложном процессе, тогда как другие факторы окружающей среды (например, интенсивность света и/или температура) одновременно влияют на физиологию клеток, позволяя им удовлетворять свои фотосинтетические потребности.

Чтобы точно описать зависящее от времени увеличение клеточной концентрации, математические модели строятся на основе концепции удельной скорости роста μ , которая определяет скорость, с которой клетки растут в определённый период времени в зависимости от лимитирующего фактора [102]. Факторы, ограничивающие рост микроводорослей, можно классифицировать как внеклеточные (такие как концентрация питательных веществ в среде и/или условия окружающей среды) или внутриклеточные (такие как внутренние отделы хранения питательных веществ) элементы.

Несмотря на сложность живых клеток, несколько кинетических моделей роста были построены в предположении, что один лимити-

рующий фактор является основной движущей силой клеточного роста. Как правило, в литературе имеются два типа моделей с одним субстратом: модели, зависящие от внеклеточных элементов, которые обычно принимают форму типа кинетики насыщения в соответствии с классической формулировкой Моно [103]; и модели, зависящие от внутриклеточных элементов, которые часто принимают форму типа модельной формулировки Друпа для внутренних квот питательных веществ [104].

Модель Моно предполагает, что рост клеточной биомассы будет в конечном счёте ограничен одной биохимической реакцией, которая обязательно катализируется ферментом, и поэтому применяется кинетика насыщения. Применение модели Моно в концепции роста биомассы микроводорослей предполагает, что конкретный субстрат S является лимитирующим фактором, а любое изменение в других субстратах имеет незначительный эффект. В предположении, что единственная ферментативная система отвечает за поглощение определённого субстрата, выражение Моно следует кинетике типа насыщения, аналогичной кинетике Михаэлиса–Ментен, разработанной для ферментативных систем [102]. Согласно уравнению Моно, удельная скорость роста гиперболически возрастает с увеличением концентрации субстрата до тех пор, пока не будет достигнута точка насыщения и рост не достигнет постоянного значения [103]:

$$\mu = \mu_{\max} \frac{S}{K_S + S}, \quad (4.1)$$

где μ_{\max} – максимальная удельная скорость роста; K_S – константа полунасыщения.

При высоких концентрациях субстрата, когда $S \gg K_S$, удельная скорость роста равна максимальной удельной скорости роста, $\mu = \mu_{\max}$. С другой стороны, константа насыщения также известна как константа половинной скорости, поскольку её значение эквивалентно концентрации субстрата, при которой скорость роста составляет половину максимальной скорости роста, $K_S = S$, когда $\mu = \frac{1}{2} \mu_{\max}$.

Модель Моно была применена многими исследователями для описания роста различных видов микроводорослей (*Chlamydomonas sp.*, *Chlorella sp.* и *Scenedesmus sp.*) при одном лимитирующем факторе, таком как: азот [105], фосфор [106], углерод [107] и свет [108].

Модель Моно может быть использована для прогнозирования роста микроводорослей при низких и умеренных концентрациях питательных веществ. Однако эта модель ограничена из-за её неспособно-

сти описать ингибирование роста при высоких концентрациях внешнего субстрата. Например, при гетеротрофном росте на ацетате клетки *Chlamydomonas reinhardtii* начинают испытывать торможение скорости своего роста по мере увеличения концентрации ацетата [107]. С другой стороны, сообщалось, что некоторые виды микроводорослей демонстрируют рост даже после истощения внешнего субстрата из-за наличия внутреннего клеточного пула питательных веществ [104, 109]. Это явление наряду с эффектами фотоингибирования не может быть описано уравнением Моно из-за его базирования на концентрации внешнего субстрата. В связи с этим был проведен дальнейший анализ и дополнительное рассмотрение моделей для учёта ограничений Моно, что привело к появлению более информативных, хотя и менее простых для применения на практике [110, 111] моделей роста, которые будут описаны в следующих разделах.

Модель Андрюса. На практике, хоть это и не является повсеместным для всех микробных культур, широкий спектр субстратов в относительно высоких концентрациях оказывает ингибирующее действие на рост микроводорослей. Было предложено несколько моделей для описания ингибирования субстратом, но наиболее часто используется модель, разработанная Андрюсом (1968) для неинтерактивной кинетики роста, ингибируемой субстратом, аналогичная модели, впервые предложенной Холдейном (1930) для описания неинтерактивного ингибирования ферментативных систем. Модели Холдейна и Андрюса отличаются от модели Моно включением в уравнение константы ингибирования K_i , которая позволяет снижать удельную скорость роста при высоких концентрациях субстрата. Уравнение Холдейна–Андрюса имеет вид

$$\mu = \mu_{\max} \frac{S}{S + K_S + \frac{S^2}{K_i}} \quad (4.2)$$

Когда только один субстрат ингибирует рост микроорганизмов, существует оптимальная начальная концентрация субстрата, при которой достигается максимальная удельная скорость роста, ингибируемая субстратом. Максимальная удельная скорость роста и соответствующая оптимальная концентрация субстрата могут быть вычислены с помощью уравнения (4.3) и уравнения (4.4) соответственно:

$$\mu_{\max} = \frac{\mu}{1 + 2\sqrt{\frac{K_S}{K_i}}} \quad (4.3)$$

$$S = \sqrt{K_S K_i} . \quad (4.4)$$

Модели ингибирования могут быть эффективно использованы для определения оптимальных начальных условий роста, необходимых для достижения максимально возможной концентрации клеток и продуктивности. Эти модели широко применялись для описания взаимосвязи между ростом биомассы (у таких видов, как *C. reinhardtii sp.*, *Chlorella sp.* и *Nannochloropsis sp.*) и внешними факторами, такими как концентрация субстрата [107], pH [112] и свет [113].

Модель Друпа. Одной из наиболее распространённых моделей роста микроводорослей является модель Друпа. Исследуя ограниченную витамином B₁₂ кинетику роста *Monochrysis lutheri*, Друп заметил, что классический график удельной скорости роста в зависимости от внешней концентрации витамина не соответствует ожидаемой гиперболе, предсказанной уравнением Моно. Вместо этого Друп выражал удельную скорость роста как сигмовидную функцию, зависящую от внутренней витаминной «квоты» (Q), определяемой как вес витамина на клетку [104]. Модель Друпа широко используется для моделирования роста как функции внутренней концентрации лимитирующего питательного вещества по отношению к углеродной биомассе. Общее выражение для этой модели показано в уравнении

$$\mu = \bar{\mu} \left(1 - \frac{q_{S,0}}{q_S} \right), \quad (4.5)$$

где $\bar{\mu}$ – теоретическая максимальная удельная скорость роста, достигнутая при гипотетической бесконечной клеточной квоте; $q_{S,0}$ – минимальная клеточная квота, необходимая для роста (также известная как прожиточная квота).

Следует отметить, что модель роста Друпа, которая зависит от внутренней концентрации, была дополнена экспрессией поглощения (для лимитирующего питательного вещества, т.е. витамина B₁₂) в качестве насыщающей функции его внешней концентрации. С тех пор в большом количестве работ в научной литературе успешно использовалась модель Друпа для описания роста микроводорослей [114 – 117] с азотом или фосфором в качестве лимитирующих питательных веществ.

Уравнение Друпа, в отличие от уравнения Моно, может описывать рост микроводорослей даже после того, как концентрация внешнего питательного вещества исчерпана, что имеет место для некоторых видов микроводорослей [118]. Недостаток этой модели заключается в том, что некоторые параметры не имеют прямого отношения к биоло-

гическим явлениям или механизмам. Например, максимальная скорость роста может быть достигнута только тогда, когда клеточная квота q_s достигает бесконечного, но не реального значения, т.е. $\mu = \bar{\mu}$, когда $q \rightarrow \infty$. Поскольку клетки обладают ограниченной способностью поглощения лимитирующего компонента, теоретическая максимальная удельная скорость роста не имеет биологической интерпретации [119]. Для модели Друпа было показано, что клетки имеют реализуемую максимальную скорость роста (и соответствующую максимальную квоту), которая достигается, когда лимитирующее питательное вещество находится в избытке и является мерой предела производства веществ клеткой [104, 119, 120]. Для более реалистичной интерпретации ограниченного клеточными квотами роста и поглощения питательных веществ микроводорослями используется концепция максимальной квоты клеточного питания q_{\max} , которая позволяет саморегулировать динамику поглощения субстрата [115, 121].

Модель Каперона–Мейера – это формула, которая также использует концепцию клеточной квоты, предполагая, что удельная скорость роста микроводорослей зависит от внутриклеточной (внутренней) концентрации любого ограничивающего рост питательного вещества. Однако она отличается от формулы Друпа тем, что включает в кинетику типа насыщения квоту жизнеобеспечения, которая по своей сути обеспечивает верхнюю границу удельной скорости роста, как это определено физиологией клетки [122]:

$$\mu = \mu_{\max} \frac{q - q_{s,0}}{K_{q,s} + q - q_{s,0}}, \quad (4.6)$$

где $q_{s,0}$ – это квота жизнеобеспечения клеток или минимальная квота, необходимая для сохранения целостности клеток и предотвращения их лизиса.

Квота жизнеобеспечения (или жизнедеятельности) выступает в качестве нижней границы, при которой скорость роста равна нулю, т.е. если $q = q_{s,0}$, то $\mu = 0$. Константа полунасыщения $K_{q,s}$, которая в модели Моно устанавливает предел хранения субстрата при максимальной удельной скорости роста, представляет здесь клеточную квоту, при которой удельная скорость роста достигает половины своего максимального значения, определяемого лизисом клеток (модель эквивалентна модели Друпа, если $K_{q,s} = q_{s,0}$). Удельная скорость роста в модели Каперона–Мейера достигает верхней границы из-за гиперболической природы уравнения (4.6), что означает, что $\mu \rightarrow \mu_{\max}$, когда $q - q_{s,0} \gg K_{q,s}$, но, как упоминалось при описании модели Друпа, квота питательных веществ q остаётся ограниченной, поскольку внутри-

клеточная ответная реакция предотвратит дополнительное поглощение любого ограничивающего питательного вещества.

Хотя гиперболическая природа модели Каперона–Мейера обходит стороной предположение о бесконечной клеточной квоте, Друп утверждал, что уровень адекватности, предлагаемый уравнением (4.6) (с тремя параметрами) не превосходит уравнение (4.5) (с двумя параметрами), что делает модель Друпа более предпочтительной [123].

Модель Мартинес–Санчо. Способность микроводорослей расти после истощения внешних питательных веществ также может быть описана моделью [124], сформулированной при исследовании влияния внешней концентрации фосфора на рост микроводорослей *Scenedesmus obliquus*. Установлено, что удельная скорость роста штамма достигает значения, отличного от нуля, по мере исчерпания внешнего фосфора в культурной среде. Проверяя воспроизводимость данных с помощью модифицированных версий классических моделей роста, было предложено следующее выражение:

$$\mu = \frac{\mu_{m1}S + \mu_{m2}K_S}{K_S + S}, \quad (4.7)$$

где μ_{m1} – максимальная удельная скорость роста при $S > 0$; μ_{m2} – удельная скорость роста при исчерпании субстрата S в среде ($S = 0$), не зависит от внутреннего содержания питательных веществ.

Константа полунасыщения K_S определяется как концентрация субстрата, при которой удельная скорость роста достигает значения, эквивалентного полусумме μ_{m1} и μ_{m2} . Далее было рассмотрено токсическое воздействие высоких концентраций субстрата на рост микроводорослей путём включения константы ингибирования в исходную модель, как представлено в уравнении [124]:

$$\mu = \frac{\mu_{m1}K_iS + \mu_{m2}S^2 + \mu_{m3}K_iK_S}{K_iK_S + SK_i + S^2}, \quad (4.8)$$

где μ_{m3} – представляет собой значение удельной скорости роста при высоких концентрациях S .

Как указывалось в обзоре [118], основным недостатком модели является необходимость определения дополнительного набора кинетических параметров, кроме тех, которые уже присутствуют в модели Моно. По-видимому, уравнение (4.7) и уравнение (4.8) в основном применялись в работах, выполненных Мартинесом и его коллегами [111, 124].

Модель Гейдера. Хлорофилл – это основной пигмент, с помощью которого клетки микроводорослей поглощают световую энергию, не-

обходимую для осуществления фотосинтеза и поддержания синтеза биомассы. Таким образом, содержание хлорофилла в микроводорослях, которое регулируется светом и концентрацией питательных веществ, может использоваться в качестве показателя роста микроводорослей. Включение содержания хлорофилла, измеренного в виде хлорофилла a , в модель роста было проведено впервые [125]. Модель учитывала общий массовый баланс между углеродом фитопланктона (C), азотом фитопланктона (N) и концентрацией хлорофилла a . Удельная скорость светонасыщенного фотосинтеза углерода (P^C) выражалась как:

$$P^C = P_m^C \left[1 - \exp \left(\frac{-\alpha^{Chl} I \theta}{P_m^C} \right) \right], \quad (4.9)$$

где P_m^C – светонасыщенная скорость фотосинтеза, нормализованная по отношению к углероду (при данной концентрации питательных веществ и температуре); α^{Chl} – начальный наклон кривой « $P-I$ », нормализованной по отношению к $Chl\ a$; I – освещённость; θ – отношение $Chl\ a$: углерод.

Чистая скорость накопления углерода $\left(\frac{dC}{dt} \right)$ и чистая скорость накопления хлорофилла $\left(\frac{dChl}{dt} \right)$ описываются уравнениями (4.10) и (4.11) соответственно:

$$\frac{dC}{dt} = P^C C - R^C C; \quad (4.10)$$

$$\frac{dChl}{dt} = \rho_{Chl} P^C C - R^{Chl} Chl. \quad (4.11)$$

В уравнении (4.10) R^C является константой скорости деградации углерода (или скорости респирации) и эквивалентна $R^C = \mu \zeta$, где ζ – затраты на биосинтез. В уравнении (4.11) R^{Chl} – константа скорости деградации для $Chl\ a$, а ρ_{Chl} – отношение синтеза $Chl\ a$ к фиксации углерода. Учитывая, что скорость роста μ эквивалентна скорости накопления углерода в уравнении (4.10), значение скорости роста в модели Гейдера выражается следующим образом:

$$\mu = \frac{P_m^C}{1 + \zeta} \left[1 - \exp \left(\frac{-\alpha^{Chl} I \theta}{P_m^C} \right) \right]. \quad (4.12)$$

Модель Гейдера широко использовалась отдельно или в сочетании с другими кинетическими моделями для прогнозирования роста биомассы и биохимического состава в отношении различных видов микроводорослей [125 – 128].

Модель Молина–Грима состоит из уравнения гиперболического типа, описывающего зависимость между удельной скоростью роста и интенсивностью света для гетеротрофных организмов. Эта гиперболическая модель представляет собой подобную модели Моно уравнение с тремя параметрами для культур, лимитируемых светом, расширенное путём включения экспоненты n , присутствие которой позволяет изменять «форму» периода лаг-фазы на графике μ к I таким образом, чтобы показать внезапное увеличение скорости роста микроводорослей при увеличении интенсивности освещения:

$$\mu = \mu_{\max} \frac{I^n}{I^n + I_k^n}, \quad (4.13)$$

где I_k – константа, характеризующая степень усвоения светового излучения фотосинтетическими клетками; n – «параметр формы» (если $n = 1$, то уравнение (4.10) эквивалентно модели Моно).

Модель Молина–Грима была использована для анализа и моделирования влияния света на скорость роста *Isochrysis galbana* и *Dunaliella tertiolecta* CCAP 19/6B [129, 130]. Следует отметить, что модель Молина–Грима аналогична уравнению Хилла, используемому для описания взаимодействий фермент–субстрат, где коэффициент Хилла n обеспечивает меру кооперативности между субстратом и местами связывания фермента: положительная кооперативность, если $n > 1$, отрицательная кооперативность, если $n < 1$, и некооперативность, если $n = 1$ [102].

4.1.2. МОДЕЛИРОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ТЕМПЕРАТУРЫ И РАСПРЕДЕЛЕНИЯ СВЕТА

Моделирование влияния освещения. Интенсивность света – один из важнейших параметров при культивировании микроводорослей. В плотных культурах отдельные клетки получают различную интенсивность света в зависимости от их положения в среде культуры. Тем не менее в хорошо перемешиваемых системах клетки испытывают короткие световые циклы, перемещаясь из светлых зон в более тёмные [131]. Чтобы учесть градиенты освещённости и в конечном итоге максимизировать рост и продуктивность биомассы водорослей, а также минимизировать капитальные и эксплуатационные затраты, интенсивность света также должна быть оптимизирована.

Моделирование взаимосвязи интенсивности света и фотосинтеза для отдельных клеток. Взаимосвязь между интенсивностью света и фотосинтезом часто представлена зависимостью $P(I)$ (P – скорость фотосинтеза, I – интенсивность света), отображающей три световых режима:

1) при низкой интенсивности света скорость фотосинтеза пропорциональна ей, поскольку фотосинтез ограничен скоростью захвата фотонов;

2) когда интенсивность света достигает порога насыщения (i_k), скорость фотосинтеза ограничивается скоростью реакций, следующих за захватом фотонов [132]. При этом скорость фотосинтеза обычно максимальна и не зависит от интенсивности света;

3) при увеличении интенсивности света сверх ингибирующего порога (I_{inhib}) скорость фотосинтеза снижается с ростом интенсивности света из-за деактивации ключевых белков фотосинтетических единиц [133].

Не существует четкого критерия выбора наиболее подходящего уравнения взаимосвязи $P(I)$. Например, в работе [134] исследовали восемь уравнений и пришли к выводу, что лучшей является модель гиперболического тангенса, в то время как автор работы [135] установил, что лучшее соответствие обеспечивает упрощенная модель ингибирования светом. Так же для моделирования зависимости $P(I)$ можно использовать модели, подобные уравнению Моно. В этих моделях свет рассматривается в качестве субстрата для фотосинтеза водорослей, а скорость фотосинтеза моделируется как

$$P = P_m \frac{I}{I_k + I}, \quad (4.14)$$

где P – удельная скорость фотосинтеза; P_m – максимальная удельная скорость фотосинтеза; I – интенсивность света; I_k – константа.

Обоснование кинетики типа Моно было представлено работой [136], в которой фотосинтез рассматривался как двухэтапный процесс, включающий последующую активацию и деактивацию фотосинтетических единиц. Альтернативные модели предполагают, что скорость, с которой фотоны «поражают» фотосинтетические единицы, соответствует распределению Пуассона.

Уровень светового ингибирования зависит не только от мгновенной интенсивности света, но и от предварительного привыкания к высоким или низким уровням освещения. Так, в работах [137, 138] установили, что клетки водорослей, предварительно культивируемые при высокой интенсивности света, отличаются более низкой продуктивностью, по сравнению с клетками, предварительно выдержанными в

темноте («эффект гистерезиса»). Часто при определении зависимости $P(I)$ не учитывается эффект светового ингибирования, что приводит к получению завышенных значений продуктивности при культивировании водорослей в открытых бассейнах [139]. Предположили, что скорость фотосинтеза *Lauderia borealis* при постоянной интенсивности света может изменяться в диапазоне от минимального значения, соответствующего состоянию ингибирования, до максимального значения, соответствующего неингибированному состоянию. Фактическая скорость фотосинтеза была определена на основе уровня светового ингибирования с использованием динамической модели, учитывающей изменение освещённости.

Моделирование фотосинтеза в хорошо перемешанных плотных культурах. Отношение $P(I)$ направлено на описание внутренней связи между фотосинтезом и интенсивностью света. Чтобы гарантировать, что все клетки подвергаются воздействию одинаковой интенсивности света, возникает необходимость экспериментального определения световой реакции при низкой концентрации биомассы. Напротив, при культивировании в открытом бассейне с целью максимизации продуктивности и минимизации капитальных затрат требуется, чтобы концентрация водорослей поддерживалась на высоком уровне [140]. Высокие концентрации водорослей приводят к возникновению световых градиентов, и отдельные клетки в зависимости от их расположения в системе подвергаются воздействию различных интенсивностей света. Другим следствием световых градиентов в хорошо перемешиваемых системах является то, что на отдельные клетки водорослей при их перемещении из зон с высокой освещённостью в зоны с низкой освещённостью воздействуют короткие световые циклы. Такая цикличность может уменьшить световое ингибирование и создать эффект мигающего света. Увеличение эффективности фотосинтеза в результате воздействия на клетки мигающего света называется эффектом мигающего света. После захвата фотонов фотосинтетическим блоком клеток водорослей требуется около 100 мс для преобразования энергии света в NADPH и АТФ. В течение этого времени любой фотон, достигший «возбуждённых» ФСЕ, тратится в пустую. В результате клетки, подвергающиеся воздействию мигающего света с циклом свет/темнота, близким к 100 мс, тратят меньше световой энергии, чем клетки, подвергающиеся воздействию непрерывного света [141 – 144]. Поэтому точность моделей, описанных в литературе, должна зависеть от способности подхода к моделированию учитывать влияние световых градиентов и коротких световых циклов. Анализ подходов к моделированию показал, что большинство моделей не проверены в условиях действующих фотобиореакторов. Поэтому классификация и оценка

данных моделей осуществлялась на основе их теоретической способности учитывать световые градиенты и короткие световые циклы, наблюдаемые в хорошо перемешиваемых средах. Модели *типа I* предсказывают скорость фотосинтеза культуры как функцию падающего света или средней интенсивности света, достигающего культуры. Модели *типа II* определяют продуктивность как сумму локальных продуктивностей без учёта коротких световых циклов. Модели *типа III* учитывают как световые градиенты, так и короткие световые циклы.

Модели типа I

Модели типа I, использующие интенсивность падающего света, выражают скорость фотосинтеза культуры как функцию интенсивности падающего света (I_0), достигающего внешней поверхности системы. Например, в работе [145], смоделировали скорость фотосинтеза культуры *Haematococcus pluvialis* с помощью функции, подобной функции Моно:

$$P = P_m \frac{I_0}{I_k + I_0}, \quad (4.15)$$

где P – удельная скорость фотосинтеза (мг O_2 /ч-г биомассы); P_m – максимальная удельная скорость фотосинтеза (мг O_2 /(ч-г биомассы)); I_0 – интенсивность падающего света (мкмоль/(m^2/c)); I_k – константа (мкмоль/(m^2/c)).

Модели I типа являются легко реализуемыми, поскольку не возникает сложностей с измерением I_0 , однако значения кинетических коэффициентов зависят от конкретных условий культивирования, что ограничивает универсальность данного подхода. Например, кинетические коэффициенты P_m и I_k , использованные в модели [145], зависят от концентрации клеток. При культивировании в реальных условиях концентрация клеток представляет собой функцию продуктивности и времени культивирования и зависит от характеристик системы культивирования и условий её работы, поэтому модели I типа могут не вполне адекватно описывать процесс.

Модели типа I, использующие среднюю интенсивность света. С целью учёта влияния концентрации клеток и геометрии реактора модели типа I выражают скорость фотосинтеза в хорошо перемешиваемых средах как функцию средней интенсивности света в культуре I_{av} . Данный подход обосновывается тем, что отдельные клетки водорослей подвергаются воздействию одинаковой интенсивности света и, следовательно, имеют одинаковую среднюю скорость фотосинтеза [146]. Опыты показали, что кинетические коэффициенты, входящие в состав данных моделей, являются функциями рабочих условий, реали-

зуемых в конкретном биореакторе, таких как концентрация клеток, интенсивность падающего света или размер системы культивирования. Это можно объяснить тем, что модели типа I не учитывают влияние коротких световых циклов, которые испытывают микроводоросли в плотных культурах.

Кроме того, водоросли в процессе культивирования в двух разных реакторах подвергаются воздействию различных I_0 и могут испытывать влияние одинаковых I_{av} в зависимости от концентрации клеток и геометрии системы. Следовательно, если для прогнозирования скорости фотосинтеза в двух системах используется одна и та же модель типа I, основанная на I_{av} , то прогнозируемая скорость фотосинтеза будет одинаковой. В действительности часть клеток с ограниченной освещённостью, насыщенной освещённостью и ингибированных светом, может отличаться в зависимости от системы, это означает, что скорость фотосинтеза, скорее всего, будет разной. Поэтому для прогнозирования продуктивности водорослей, культивируемых в реальных биореакторах модели типа I, включающие I_{av} , можно использовать только при изменении диапазонов концентрации клеток, интенсивности падающего света и геометрии системы, для которых рассчитывались коэффициенты модели.

Модели типа II

Модели *типа II* учитывают влияние световых градиентов на локальную скорость фотосинтеза. Данные модели строятся путём количественного определения распределения света внутри культуральной жидкости, выбора биологической модели, выражающей локальную скорость фотосинтеза как функцию локальной интенсивности света и суммирования локальных скоростей фотосинтеза для получения глобальной скорости фотосинтеза.

В качестве примера в моделях типа II локальная скорость фотосинтеза может быть рассчитана с помощью функции, подобной функции Моно, в сочетании с законом Бера–Ламберта для распределения света, который описывается следующим образом:

$$P(l) = \frac{I_0 \exp(-\sigma X l)}{I_k + I_0 \exp(-\sigma X l)}, \quad (4.16)$$

где $P(l)$ – локальная объёмная скорость фотосинтеза на расстоянии l от внешней границы системы; I_k – константа насыщения; I_0 – интенсивность падающего света; σ – коэффициент экстинкции, отражающий уровень поглощения света средой; X – концентрация клеток.

Скорость фотосинтеза всей системы P может быть определена путём интегрирования $P(l)$ по всему объёму системы как

$$P = \int_V P(l)dV, \quad (4.17)$$

где V – объём культуры; dV – объём дискретных элементов.

Литературные данные свидетельствуют о том, что такие модели могут точно предсказывать продуктивность водорослей в широком диапазоне условий культивирования в различных конструкциях. Так, в работе [147] показали, что модель типа II способна предсказать скорость фотосинтеза в восьми фотобиореакторах с различной геометрией с уровнем точности $\pm 15\%$.

При прогнозе скорости фотосинтеза при культивировании водорослей в реальных условиях нужно учитывать световое ингибирование при высокой интенсивности света (в случаях с естественным освещением). Теоретически степень светового ингибирования, испытываемого клетками в хорошо перемешанной плотной культуре, зависит от перемещения отдельных клеток водорослей между зонами высокой освещённости у поверхности и зонами низкой освещённости в глубине. Такая цикличность позволяет клеткам восстанавливаться после кратковременного воздействия ингибирующей интенсивности света, что ослабляет общее воздействие светового ингибирования на скорость фотосинтеза. В моделях типа II эффект коротких световых циклов не учитывается. Поэтому, как предполагают авторы работы [148], при прогнозировании продуктивности водорослей при полномасштабном культивировании в реальных условиях использование моделей типа II может переоценить влияние светового ингибирования.

Модели типа III

Согласно моделям типа III скорость фотосинтеза отдельной клетки водоросли является функцией её «световой истории» (т.е. количеством света, получаемого клеткой при её перемещении по реактору). Таким образом, модели типа III включают в себя:

- определение световых историй клеток водорослей;
- определение скорости фотосинтеза отдельных клеток водорослей на основе их световых историй с помощью динамической биологической модели;
- суммирование скоростей фотосинтеза отдельных клеток водорослей для расчёта общей скорости фотосинтеза в системе культивирования.

Определение светопотребления клетками. В простейшем случае фотобиореактор можно разделить на несколько зон. Например, в рабо-

те [149] при моделировании производительности водорослей, культивируемых в эрлифтном фотобиореакторе, выделили две зоны постоянной скорости: внешний спускной коллектор, подвергающийся воздействию постоянной интенсивности света, и центральный вытяжной сток, находящийся в полной темноте. В качестве альтернативы авторы работы [150] считали, что отдельные клетки фитопланктона в океане имеют круговую траекторию движения в вертикальной плоскости. Построенные таким образом модели обладали хорошей точностью, но данный подход может сопровождаться трудностями в применении и ограничен из-за сложных для моделирования форм реакторов.

Альтернативой «предсказыванию» гидродинамики является построение физической модели и прямое измерение поля скоростей элементов среды, как это сделали авторы работы [151], которые определяли траектории движения клеток в реакторе. Однако экспериментальное определение поля скоростей трудоёмко. В качестве альтернативы можно смоделировать поля скоростей с помощью вычислительной гидродинамики (CFD) [152 – 154]. С использованием созданной модели можно относительно быстро оценить многочисленные поля скоростей для конкретной конструкции реактора и, следовательно, траектории движения клеток. Однако, хотя CFD представляется фундаментальной системой, решающей уравнения Навье–Стокса, она требует аккуратного выбора схем дифференцирования и получение большого массива экспериментальных данных [155].

Трёхпопуляционные модели

В целях предсказания скорости фотосинтеза отдельной клетки водоросли большинство биологических моделей типа III фокусируются на фотосинтетических единицах (ФСЕ), ответственных за захват света [156 – 158]. Данные трёхпопуляционные модели предполагают, что преобразование фотонов в полезную энергию является двухэтапным процессом, в котором сначала на ФСЕ попадают фотоны, пока они не накопят достаточное количество энергии для того, чтобы «заряженные ФСЕ» произвели АТФ и NADPH. Считается, что скорость фотосинтеза пропорциональна скорости перехода из возбуждённого состояния в состояние покоя. ФСЕ могут быть заторможены, если на них попадает избыточное количество фотонов, что приводит к деактивации ключевых белков в процессе фотосинтеза. Предполагается, что ингибированные ФСЕ не способны перерабатывать фотоны и нуждаются во времени для восстановления. Следовательно, ФСЕ могут находиться в:

1) состоянии покоя, когда работа ФСЕ приостановлена, но если на них попадёт достаточное количество фотонов и они переходят в возбуждённое состояние;

2) возбуждённом состоянии, когда ФСЕ содержат фотохимическую энергию, необходимую для генерации молекул NADPH и АТФ;

3) заторможенном состоянии, когда ФСЕ не могут обрабатывать фотоны, пока повреждённые ключевые белки не будут вновь сгенерированы (процесс восстановления).

Когда трёхпопуляционная модель применяется при постоянном освещении [194], скорость фотосинтеза может быть рассчитана с использованием уравнения

$$P = P^C \frac{1}{1 + KI + K'I^2}, \quad (4.18)$$

где P – скорость фотосинтеза; P^C , K и K' – константы [157].

В нескольких экспериментальных исследованиях было показано, что данное уравнение с достаточной точностью описывает скорость фотосинтеза культур, подвергающихся воздействию постоянной и однородной интенсивности света [159 – 161]. Трёхпопуляционная модель теоретически способна предсказать эффект *flashing-light*, что было продемонстрировано в работе [162].

Альтернативная модель, учитывающая динамическую природу светового ингибирования, была разработана в работе [163], в которой были смоделированы изменения концентрации белка D1, повреждение которого приводит к световому ингибированию.

Поскольку модели типа III были разработаны для учёта коротких световых циклов, они теоретически способны предсказывать продуктивность при полномасштабном культивировании водорослей в реальных условиях. Однако совокупность неточностей трёх частей модели (для распределения света, траектории движения клеток и биологической реакции) может существенно повлиять на точность общего прогноза моделей типа III. Наконец, преимущество, которое даёт возможность моделировать эффект «света», само по себе спорно в контексте полномасштабного культивирования, поскольку требуемая энергия перемешивания может повредить клетки и значительно увеличить эксплуатационные расходы [164].

Учёт световой акклиматизации клеток. Содержание пигментов в клетках водорослей может значительно изменяться во время культивирования [165]. Данное изменение вызвано световой акклиматизацией: при низкой интенсивности света клетки способны увеличивать содержание пигмента, чтобы максимизировать количество улавливаемого света. При высокой интенсивности света клетки склонны снижать

содержание пигмента, чтобы минимизировать риск светового ингибирования [166].

Световая акклиматизация происходит в относительно длительном временном промежутке (от нескольких часов до нескольких дней) и может быть смоделирована независимо от других динамических механизмов фотосинтеза. В работе [166] было предложено, что биомасса, образующаяся в процессе фотосинтеза, распределяется либо в «путь фотосинтетического аппарата», либо в «путь хранения», а количество образующегося хлорофилла обратно пропорционально интенсивности света. Данная модель световой акклиматизации была усовершенствована в работах [166, 167] для учёта влияния ограничения питательных веществ и температуры на световую акклиматизацию.

Пренебрежение световой акклиматизацией в моделях продуктивности может повлиять на точность прогнозов при выращивании в открытой емкости. Однако световая акклиматизация редко учитывается в современных моделях фотосинтеза [168], и для полномасштабного прогнозирования могут потребоваться подходы, аналогичные подходу [169].

Моделирование распределения света

Закон Бера–Ламберта. При культивировании водорослей распределение света часто оценивается с помощью закона Бера–Ламберта, который предполагает экспоненциальную зависимость интенсивности света от внешней поверхности системы культивирования:

$$I(l) = I_0 \exp(-\sigma Xl), \quad (4.19)$$

где $I(l)$ – локальная интенсивность света; l – расстояние от внешней поверхности системы до рассматриваемой позиции; I_0 – интенсивность света на начальном этапе; σ – коэффициент экстинкции; X – концентрация клеток.

Закон Бера–Ламберта применим только в случае изотропичности культуральной жидкости (т.е. оптические свойства культуральной жидкости не зависят от направления света) и неспособности клеток водорослей рассеивать свет. Первое условие часто выполняется в хорошо перемешиваемых системах культивирования в открытом бассейне, второе же условие невыполнимо, так как клетки водорослей рассеивают свет [169]. Поэтому были разработаны различные эмпирические выражения для учёта рассеивания:

$$I(l) = I_0 \exp\left(-\frac{k_1 Xl}{k_2 + X}\right), \quad (4.20)$$

где k_1 и k_2 – эмпирические константы.

Предложенные модели показали хорошее сходжение с экспериментальными данными [169 – 171], но корректны для конкретного вида. В результате эмпирическое распределение света должно быть определено в подходящем диапазоне концентрации клеток для каждого изучаемого вида водорослей, что, как правило, занимает много времени.

Уравнение радиационного переноса. Альтернативой подходу Бера–Ламберта является решение уравнения радиационного переноса (УРП) в трёх измерениях [172]. УРП может быть получено путём рассмотрения небольшого элемента культуральной жидкости и выполнения радиационного баланса на элементе с учётом падающего, поглощённого, переданного и рассеянного источников излучения.

Предполагая, что угловое рассеяние света фиксировано в каждой части [173, 174], разработали «двухфакторную модель», позволяющую определить распределение света с помощью набора из двух обыкновенных дифференциальных уравнений. Используя данный подход, в работе [169] продемонстрировали, что закон Бера–Ламберта завышает уровень ослабления света в цилиндрическом фотобиореакторе в 2 раза, в то время как предсказание «двухфакторной модели» хорошо согласуется с измеренным распределением света. В качестве альтернативы, предполагая, что свет распространяется в индивидуальном направлении, в работе [175] смогли создать алгоритм, определяющий распределение света для любого типа геометрии реактора.

Без упрощения УРП должно быть решено численно, как это было сделано в работе [176]. Было установлено, что этот подход дает более точное предсказание распределения света, чем закон Бера–Ламберта и «двухфакторная модель» [176], но он требует больших вычислительных затрат. В качестве альтернативы можно использовать метод Монте-Карло для численного определения распределения света [177 – 179]. В идеале, независимо от используемого подхода, прогноз распределения света должен быть подтверждён экспериментальными измерениями освещённости.

Моделирование влияния температуры на фотосинтез

Температура в моделях типов I и II

Несвязанные модели. Первый подход к моделированию влияния температуры на фотосинтез заключается в рассмотрении света и температуры как двух независимых факторов. Данные «несвязанные» модели выражают скорость фотосинтеза как произведение двух функций: интенсивности света и температуры. Например, в модели типа I [180] уравнение Моно, учитывающее интенсивность света, умножается на уравнение Аррениуса, учитывающее температуру:

$$\mu = \mu_{m,0} \exp\left(-\frac{E_a}{kT}\right) \frac{I_{av}}{K + I_{av}}, \quad (4.21)$$

где μ – удельная скорость роста, ч^{-1} ; $\mu_{m,0}$ – максимальная удельная скорость роста, ч^{-1} ; E_a – энергия активации фотосинтеза, Дж; k – постоянная Больцмана, Дж/К; T – температура, К; I_{av} – средняя интенсивность света в культуральном бульоне, $\text{мкмоль}/(\text{м}^2/\text{с})$; K – световая константа, $\text{мкмоль}/(\text{м}^2/\text{с})$.

Уравнение Аррениуса использовалось в нескольких работах [181, 182], но оно не может предсказать негативное влияние высокой температуры на ферментативную активность биологических систем [183]. Чтобы устранить это ограничение, в работе [106] смоделировали скорость деактивации ферментов в зависимости от температуры:

$$\mu(I) = \mu_{m,0}(I) \frac{\exp\left(-\frac{E_a}{kT}\right)}{1 + K \cdot \exp\left(-\frac{E'_a}{kT}\right)}, \quad (4.22)$$

где $\mu(I)$ – удельная скорость роста (сут^{-1}) при интенсивности света I , $\text{Вт}/\text{м}^2$; $\mu_{m,0}$ – максимальная удельная скорость роста (сут^{-1}) при интенсивности света I , $\text{Вт}/\text{м}^2$; k – постоянная Больцмана, Дж/К; T – температура, К; E_a и E'_a – энергия активации фотосинтеза и денатурации ферментов соответственно, Дж; K – безразмерная константа.

В работе [184] представлена максимальная удельная скорость роста как функция минимальной, максимальной и оптимальной температур фотосинтеза (T_{\min} , T_{\max} и T_{opt} соответственно):

$$\begin{aligned} \mu(I) = & \mu_{m,0}(I) \times \\ & \times \frac{(T - T_{\max})(T - T_{\min})^2}{(T_{\text{opt}} - T_{\min})(T_{\text{opt}} - T_{\min})(T - T_{\text{opt}}) - (T_{\text{opt}} - T_{\min})(T_{\text{opt}} + T_{\min} - 2T)}. \end{aligned} \quad (4.23)$$

Объединенные модели. В отличие от несвязанных подходов, «связанные» модели направлены на учёт потенциального взаимовлияния света и температуры на скорость фотосинтеза [185, 186]. Например, в модели [159] параметры «модели светового ингибирования» являются функциями температуры, а удельная скорость роста μ (сут^{-1}) выражается как

$$\mu = 2\mu_m(T)(1 + \beta_1) \frac{I}{I_{\text{opt}}(T)} \frac{1}{1 + \frac{2\beta_1 I}{I_{\text{opt}}(T)} + \left(\frac{I}{I_{\text{opt}}(T)}\right)^2}, \quad (4.24)$$

где $\mu_m(T)$ – максимальная удельная скорость роста (сут^{-1}) при температуре T , °C; β_1 – константа; I – интенсивность света, $\text{мкмоль}/(\text{м}^2/\text{с})$; $I_{\text{opt}}(T)$ – оптимальная интенсивность света для фотосинтеза ($\text{мкмоль}/(\text{м}^2/\text{с})$) при температуре T , °C.

Хотя по сравнению с несвязанными моделями связанные лучше отражают влияние температуры, лимитирующий этап фотосинтеза не всегда зависит от температуры. Кроме того, связанные модели требуют экспериментального определения большого числа параметров. В связи с этим хорошее соответствие при валидации может быть обусловлено только хорошей точностью набора параметров. Данная проблема, называемая «чрезмерной подгонкой», может повлиять на точность прогноза [187].

Температура в моделях типа III

Поскольку модели типа III основаны на кинетике реакций, происходящих в клетке, влияние температуры можно моделировать, рассматривая её воздействие на лимитирующие реакции фотосинтеза. Например, скорости процессов восстановления и снятия возбуждения, рассматриваемые в трёхпопуляционной модели ($R2$ и $R5$ соответственно), контролируются специфическими ферментами, активность которых может быть оценена при различных температурах. Автор работы [188], например, предположил, что зависимость от температуры скоростей этих двух реакций может быть смоделирована с помощью уравнения Аррениуса. Скорости реакций $R1$ и $R3$ являются функциями только интенсивности света и могут считаться независимыми от температуры [157].

При культивировании водорослей в открытых условиях могут наблюдаться значительные суточные и сезонные колебания температуры [189], что означает, что температурная акклиматизация может влиять на продуктивность. Однако данный механизм не учтен в моделях, рассмотренных в данном исследовании.

Моделирование эндогенного дыхания

Кратковременное дыхание в световой фазе. В работе [138] авторы показали, что кратковременное дыхание в световой фазе может

потреблять до 25% химической энергии (АТФ, NADPH), вырабатываемой в процессе фотосинтеза. Данное потребление может быть прямо пропорционально скорости фотосинтеза [190]. Например, в работе [92] предположили, что скорость дневного дыхания (R_0 , в (г углерода)/(с·м³)) может быть выражена как

$$R_0 = -\zeta\mu X, \quad (4.25)$$

где ζ – безразмерная константа; μ – удельная скорость роста, с⁻¹; X – концентрация клеток, г углерода/м³.

Следует отметить, что у некоторых цианобактерий дневное дыхание может быть подавлено светом, и поэтому, когда клетки подвергаются только короткому воздействию света, процесс дыхания не осуществляется. Так же оно не осуществляется при кратковременном воздействии на клетки темноты [192]. Для данных видов водорослей скорость дневного дыхания можно принять равной нулю.

Долгосрочное дыхание в темновой фазе. Длительное дыхание в темновой фазе может вызвать значительные потери биомассы при культивировании [191]. Скорость поддержания R_N в ночное время (выраженная как биомасса в единицу времени и на единицу объёма) обычно моделируется с помощью кинетики первого порядка относительно концентрации клеток:

$$R_N = -\lambda X, \quad (4.26)$$

где λ – константа (выраженная в единицу времени); X – концентрация клеток, выраженная как биомасса на единицу объёма.

Данный подход предполагает, что ночное дыхание связано только с функцией поддержания жизнедеятельности и, следовательно, удельная скорость λ постоянна во времени. Данный подход был использован в работе [192] для моделирования роста *A. platensis* при культивировании в открытых условиях при постоянной температуре.

В полномасштабных системах культивирования предположение о постоянной скорости ночного дыхания может быть неточным по нескольким причинам:

- температура: в исследовании [192] показано, что удельная скорость дыхания *A. variabilis* увеличивается с 0,2 до 1,0 г углерода/г биомассы в сутки при изменении температуры от 10 до 40 °С. Поскольку при культивировании в открытых условиях температура ночью может понижаться более чем на 10 °С [189], необходимо учитывать влияние температуры на дыхание в темновой фазе. Однако лишь немногие модели учитывают данный факт. Для этого автор работы [193] предложил умножать удельную скорость дыхания λ на функцию Вант-Гоффа по аналогии с химическими реакциями;

– клеточный состав: в работе [191] наблюдали, что величина ночной потери биомассы в системах культивирования в открытом бассейне зависит от интенсивности света и температуры, наблюдавшихся в течение предыдущего дня. Эта зависимость объяснялась тем, что скорость эндогенного дыхания является функцией содержания углеводов в клетках.

Источники неточностей

Источники света. При культивировании микроводорослей используется широкий спектр источников света: «холодные белые» флюоресцентные [192], вольфрамовые лампы [170] и естественный солнечный свет [148]. В большинстве исследований источник света характеризуется только его интенсивностью, выраженной в единицах потока фотонов ($\text{мкмоль}/(\text{м}^2 \cdot \text{с})$) или энергией ($\text{Вт}/\text{м}^2$). Тем не менее световая реакция клеток водорослей является функцией спектра света, поскольку фотосинтетические пигменты способны поглощать свет только с определёнными длинами волн, как было показано в работе [145] при культивировании *Haematococcus pluvialis*. Поскольку большинство источников света имеют спектр, отличный от солнечного света, модели, проверенные на основе данных, полученных в помещении, не могут быть непосредственно применимы к водорослям, культивируемым на открытом воздухе. Чтобы учесть взаимодействие между типом лампы и содержанием клеточного пигмента, в ряде исследований были определены спектры поглощения и излучения фотосинтезирующих микроорганизмов [194]. Но данный подход требует экспериментального определения спектрального распределения источника света, используемого для разработки модели.

Экспериментальные методы, используемые для измерения скорости фотосинтеза. Для количественной оценки скорости фотосинтеза в ходе модельных исследований можно измерить несколько параметров, и в зависимости от цели исследования выбрать оптимальный, например скорость выделения кислорода или скорость поглощения неорганического углерода [195, 196], концентрацию сухого веса (СВ) [148] или оптическую плотность культуральной жидкости (ОП) [169]. Состав биомассы и другие свойства клеток зависят от вида и условий культивирования [197], это означает, что прогнозирование продуктивности биомассы на основе косвенного показателя сухого веса биомассы может породить значительную неопределённость. В частности, следует внимательно относиться к использованию ОП в модельных исследованиях, направленных на прогнозирование продуктивности в открытых системах, поскольку отношение ОП/СВ может значительно изменяться со временем из-за изменений в содержании хлорофилла, связанных со световой

акклиматизацией [165]. Чтобы минимизировать влияние изменений содержания пигментов на соотношение ОП/СВ, в различных исследованиях ОП измеряли при длинах волн выше 700 нм (например, 750 нм в работе [198]; 760 нм – в [159]; или 720 нм – в [199]).

Неточность ввода данных по свету и температуре. Интенсивность падающего света, распределяемого в открытых системах культивирования, трудно предсказать, и её оценка отличается определённым уровнем неопределённости. Например, в работе [165] продемонстрировали, что количество света, достигающего водорослей, культивируемых в открытом вертикальном колонном фотобиореакторе, может значительно изменяться в зависимости от проницаемости стенок (которая может меняться из-за отложения биомассы на стенках). Такой уровень неточности модели может привести к неточности прогноза производительности. Современные модели, прогнозирующие температуру в системах культивирования в открытых условиях, точны только в пределах 1...2 °С [189, 200], что может повлиять на точность прогноза продуктивности. Необходимо отметить, что в исследованиях мало внимания уделяется влиянию неопределённости, связанной с оценкой величин света и температуры при прогнозировании продуктивности водорослей в полномасштабных системах.

4.1.3. КИНЕТИЧЕСКИЕ МОДЕЛИ РОСТА МИКРОВОДОРОСЛЕЙ НА НЕСКОЛЬКИХ СУБСТРАТАХ

Ограничение скорости роста микроводорослей происходит из-за изменения состава питательных сред и характеристик режимов культивирования (освещённости и температуры) [118, 201]. Совместное ограничивающее влияние факторов окружающей среды (T и I) в основном наблюдается при росте фотоавтотрофных водорослей, в то время как совместное ограничение из-за углерода, азота и фосфора наблюдается в гетеротрофных культурах водорослей. Вместе с тем модели с одним субстратом сравнительно легко построить и легко предсказать процессы роста микроводорослей, они часто применимы только для систем культивирования в лабораторном масштабе. Таким образом, несмотря на свою сложность, предпочтительны модели с несколькими субстратами, поскольку они применимы для широкого спектра составов сред и условий окружающей среды. Идентификация параметров является решающим этапом разработки такой модели. При этом некоторые параметры могут отражать физический смысл и могут быть легко определены из прямых экспериментальных измерений (параметры Моно, μ_{\max} и K_S , уравнение (4.1), например, могут быть определены из экспериментальной кривой μ к S , предполагающей, что ни-

какое другое питательное вещество не является лимитирующим), другие могут не иметь такой прямой физической интерпретации, и их включение в основном служит для подгонки имеющихся данных.

По мере увеличения числа факторов, ограничивающих рост (т.е. от одного субстрата к моделям с несколькими субстратами), увеличивается степень нелинейности модели и количество параметров. Поэтому вычисление значений параметров становится сложной задачей, требующей внедрения последовательных процедур подгонки и/или глобальных методологий оптимизации для калибровки модели на основе имеющихся экспериментальных данных [202 – 204]. Такие модели, как правило, вообще не поддаются идентификации, и в этой связи к значениям параметров, полученным с помощью методов подгонки (даже если используются глобальные методы), следует подходить осторожно, поскольку они могут просто представлять собой набор оценок, которые обеспечивают наилучшее соответствие конкретной структуры модели экспериментальным данным. Оценка соответствия кинетических моделей и идентифицируемости параметров может быть проведена с помощью комбинаций математических и статистических процедур (например, анализ чувствительности, вычисление доверительных интервалов, построение матрицы Фишера и/или корреляционных матриц) [205 – 207]. При разработке моделей роста микроводорослей с несколькими субстратами предполагают, что субстрат, питательные вещества и факторы окружающей среды управляют ростом микроводорослей посредством многочисленных взаимодействий. Различают три типа таких моделей: неинтерактивные, аддитивные и интерактивные.

Неинтерактивные модели. Изменение лимитирующих рост микроводорослей факторов распространено в открытых системах. Например, различные переменные уровни азота и фосфора, двух основных питательных веществ, влияющих на рост биомассы, могут наблюдаться сезонно. Например, в морской воде количество N ограничено, но P достаточно, а смешивание с пресной водой даёт больше N и снижает уровень P. Были предложены различные модели того, как питательные вещества влияют на рост фитопланктона. Неинтерактивные модели, также называемые пороговыми моделями или законами минимума, считают, что клеточный рост всегда контролируется наиболее ограничивающим питательным веществом из всех возможных связанных с ростом питательных веществ, необходимых для роста микроводорослей. Поэтому совместное ограничение питательных веществ несколькими факторами не рассматривается. Это было впервые подчёркнуто Друпом [208], который изучал совместное ограничение витамина B₁₂ и

фосфора на *Monochrysis lutheri* (золотистые микроводоросли) и показал, что скорость роста биомассы контролируется наиболее лимитирующим питательным веществом. Похожие выводы были сделаны в отношении *Scenedesmus sp.* (зеленые микроводоросли) с азотом и фосфором [209]. Таким образом, уравнение скорости роста микроводорослей становится эквивалентным самой низкой скорости роста, определяемой наиболее ограничивающим фактором. Общая форма пороговой модели записывается в виде

$$\mu = \mu_{\max} \min(f(x_1), f(x_2), f(x_3), \dots, f(x_i)), \quad (4.27)$$

где μ_{\max} – максимальная удельная скорость роста; $\min(f(x_1), f(x_2), f(x_3), \dots, f(x_i))$ – функция, обычно называемая законом минимума Либиха [210], которая в конечном счёте принимает форму выражения, описывающего рост по наиболее ограничивающему субстрату, такому как CO_2 , N, P, свет или температура.

Следовательно, уравнение (4.27) принимает форму модели с одним субстратом.

В работе [211] предложена неинтерактивная кинетическая модель для прогнозирования влияния аммония и глюкозы на удельную скорость роста водорослей:

$$\mu = \mu_{\max} \frac{\frac{S_1}{K_1}}{1 + \frac{S_1}{K_1}}, \text{ если } \frac{S_1}{K_1} < \frac{S_2}{K_2};$$

$$\mu = \mu_{\max} \frac{\frac{S_2}{K_2}}{1 + \frac{S_2}{K_2}}, \text{ если } \frac{S_2}{K_2} < \frac{S_1}{K_1}, \quad (4.28)$$

где μ_{\max} – максимальная скорость роста, определяемая концентрацией наиболее ограниченного субстрата; $S_{1,2}$ и $K_{1,2}$ – константы половины скорости или полунасыщения (равная концентрации субстрата, при которой клетки растут с половиной своей максимальной скорости).

Известна комплексная модель квот [90] для описания роста микроводорослей в зависимости от концентрации азота или фосфора, которая использовала неинтерактивный подход в виде

$$\mu = \mu_{\infty} \min\left(1 - \frac{Q_{\min, P}}{Q_P}, 1 - \frac{Q_{\min, N}}{Q_N}\right), \quad (4.29)$$

где μ_{∞} – скорость роста при бесконечной квоте, сут⁻¹; $Q_{\min, P}$ – минимальная квота фосфора (10^{-9} мкмоль P/кл); $Q_{\min, N}$ – минимальная квота азота (10^{-9} мкмоль N/кл).

Так же были предложены аналогичные комплексные модели [176], комплексные модели квот [115] и комплексная модель Моно [212].

Неинтерактивные модельные формулировки могут точно предсказывать скорость роста микроводорослей только тогда, когда степень взаимодействия между определёнными клеточными подсистемами достаточно мала, и эти выражения принимают форму кинетической модели с одним субстратом. Хотя клеточный рост вряд ли будет иметь две независимые клеточные подсистемы. Такой сценарий может возникнуть, когда два или более субстрата используются одновременно или последовательно в течение периода роста таким образом, что их вклад в общий рост клеток учитывается индивидуально. Последовательное использование двух питательных веществ обычно приводит к отчетливой двухфазной модели роста, называемой эффектом диауксии [102]. Несмотря на их относительную простоту, применимость неинтерактивных формулировок узконаправлена для более сложные, но более реалистичные клеточные системы, где доступность всех питательных ресурсов влияет на физиологическое состояние микроорганизма.

Аддитивные модели. В аддитивных моделях удельная скорость роста организма с ограниченным количеством питательных веществ определяется как сумма каждого отдельного зависящего от субстрата члена скорости роста $\mu(S_i)$. Соответствующее общее выражение показано в уравнении [102]

$$\mu = \mu_{\max} [W_1\mu(S_1) + W_2\mu(S_2) + \dots + W_n\mu(S_n)]. \quad (4.30)$$

Здесь каждая из скоростей роста с одним питательным веществом $\mu(S_n)$ дополнительно контролируется весовой функцией W_n , которая указывает величину ограничения, создаваемого соответствующим субстратом на максимальную скорость роста μ_{\max} . Несмотря на преимущество подобных моделей, заключающееся в возможности включения нескольких питательных веществ или факторов окружающей среды, их недостатком является то, что установление адекватных весовых функций является сложной задачей. Весовая функция систем, описываемых простой кинетикой типа Моно, может быть выражена с использованием констант полунасыщения, как показано в уравнении

$$W_{i=1,2,\dots,n} = \frac{\frac{K_i}{S_i}}{\sum_{i=1}^{i=n} \frac{K_i}{S_i}}. \quad (4.31)$$

Однако организмы с более сложной кинетикой роста не имеют стандартизированной весовой функции, и её построение или выбор требует аналитической и экспериментальной работы.

В работе [114] моделировали рост культуры *Chlorellasp.* с помощью простой азот-зависимой модели Друпа, но для учёта миксотрофных условий использовали аддитивную структуру. Таким образом, модель учитывала, что гипотетическая максимальная удельная скорость роста по Друпу контролируется суммой фотосинтетических и гетеротрофных поглощений углерода, которые регулируются углеродной клеточной квотой. В некоторых случаях вместо установления соответствующей весовой функции предполагается, что значение максимальной удельной скорости роста различно и специфично для каждого субстрата, и уравнение (4.30) принимает вид

$$\mu = \mu_{\max, 1}\mu(S_1) + \mu_{\max, 2}\mu(S_2) + \dots + \mu_{\max, n}\mu(S_n). \quad (4.32)$$

Уравнение (4.32) чаще всего используется для моделирования роста бактерий на двух доступных или конкурентных субстратах [213, 214]. Этот подход был использован [215] для прогнозирования гетеротрофного роста микроводорослей в присутствии двух источников углерода: ацетата и бутирата. Предложенная модель использовала аддитивную структуру для описания удельной скорости роста, зависящей от каждого из этих источников углерода. Ацетат-зависимый рост был выражен как функция Моно, тогда как бутират-зависимый рост был выражен через функцию Холдейна для учёта самоингибирования субстрата. Кроме того, предполагалось, что рост, ограниченный бутиратом, будет дополнительно ограничен ацетатом.

Интерактивные модели. Интерактивные модели, также называемые мультипликативными моделями, предполагают, что на общую скорость роста одновременно влияют два или более параметров роста. Другими словами, если два из основных ресурсов присутствуют в предельных концентрациях, они оба непосредственно ограничивают общую скорость роста микроводорослей, и эффекты ограничения становятся мультипликативными. Простой способ построения такой модели интерактивного типа состоит в умножении двух или более ограниченных моделей с одним субстратом:

$$\mu = \mu_{\max} (f(x_1)f(x_2)f(x_3)f(x_i))), \quad (4.33)$$

где μ_{\max} – максимальная скорость роста, на которую влияют все лимитирующие ресурсы, такие как CO_2 , N, P, свет и температура; $f(x_i)$ – функция лимитирующего ресурса x_i .

Одна из самых ранних интерактивных моделей была исследована в работе [216] и учитывала влияние температуры и концентрации питательных веществ:

$$\mu = A e^{-E/RT} \left[\frac{S}{K_S + S} \right], \quad (4.34)$$

где A – константа, сут⁻¹; E – энергия активации, кал/моль; R – универсальная газовая постоянная, 1/(К·моль); T – температура, °С; S – концентрация лимитирующего вещества, мг/л; K_S – константа полунасыщения, мг/л.

В работе [209] предложена интегрированная интерактивная модель квот для совместного влияния фосфора и азота:

$$\mu = \mu_{\max} \frac{q_P - q_{0P}}{K_P + (q_P - q_{0P})} \frac{q_N - q_{0N}}{K_N + (q_N - q_{0N})}, \quad (4.35)$$

где μ_{\max} – максимальная скорость роста, определяемая обоими лимитирующими ресурсами; N и P , K_P и K_N – концентрации полунасыщения клеток N и клеток P ; q_P и q_N – уровни клеток P и клеток N ; q_{0P} и q_{0N} – минимальные концентрации клеток P и клеток N .

Как видно из приведённых выше уравнений, мультипликативные модели основаны на перемножении моделей с одним субстратом.

Модель из работы [217] для ёмкостей стабилизации сточных вод отличается тем, что она содержит как неинтерактивные, так и интерактивные части:

$$\mu = \mu_{al\ gal} \min[f_1(N), f_2(I)] f_3(pH) f_4(T). \quad (4.36)$$

Первая часть уравнения (4.42) ($\min[f_1(N), f_2(I)]$) – это неинтерактивная составляющая, в которой учитывается наиболее ограничивающий фактор (N , P или I). Вторая часть уравнения (4.36) ($f_3(pH)$, $f_4(T)$) представляет собой интерактивную составляющую, в которой рассматривается совместное ограничение как pH , так и T .

4.2. МОДЕЛИРОВАНИЕ ПРОДУЦИРОВАНИЯ ЛИПИДОВ И УГЛЕВОДОВ МИКРОВОДОРОСЛЯМИ

Предыдущие модели были построены в целях точного прогнозирования роста микроводорослей при различных составах сред и факторов окружающей среды. Эти модели представляют собой мощные инструменты для оптимального проектирования и управления крупномасштабными системами с целью производства ценных продуктов из микроводорослей.

Эффективное моделирование роста микроводорослей позволяет создать наилучшие условия культивирования для получения биомассы. Кроме этого, математическая модель должна дополнительно отражать распределение углерода между внутренним накоплением углеводов и липидов. Прогнозирование скорости накопления этих основных продуктов на основе углерода, наряду с их зависящим от времени увеличением в ответ на факторы, ограничивающие рост, помогло бы разработать стратегии оптимизации для топливных установок, работающих на микроводорослях. Моделирование продуцирования этих внутриклеточных углеродных продуктов является сложной задачей из-за многочисленных и очень сложных реакционных цепочек, которые управляют поглощением углерода и его распределением между запасами крахмала и липидов. Динамика продуцирования крахмала и липидов может быть аппроксимирована с помощью макроскопических моделей, учитывающих упрощённые механизмы реакций и взаимодействия субстрата с продуктом, аналогичные тем, которые уже используются в микробной кинетике.

Образование микробных продуктов обычно выражается удельной скоростью образования продукта, q_{Prod} :

$$\frac{dP}{dt} = q_{Prod} X . \quad (4.37)$$

Удельная скорость образования продукта обычно зависит от того, является ли продукт [102]:

- 1) связанным с ростом, если скорость его образования пропорциональна скорости роста клеток (т.е. $q_{Prod} = \alpha\mu$);
- 2) не связанным с ростом, если он образовывается с постоянной скоростью в течение стационарной фазы (т.е. $q_{Prod} = \beta$);
- 3) связанным со смешанным ростом, если производство происходит как в экспоненциальной, так и в стационарной фазах роста.

В третьем случае скорость образования продукта описывается уравнением Людекинга–Пирета:

$$\frac{dP}{dt} = \alpha\mu X + \beta X , \quad (4.38)$$

где μ – удельная скорость роста, ограниченная одним или несколькими факторами; α и β – эмпирические константы, связанные с ростом таким образом, что при $\alpha = 0$ образование продукта не связано с ростом, а при $\beta = 0$ образование продукта связано с ростом; X – концентрация биомассы.

Уравнение (4.38) было использовано для моделирования синтеза липидов у *Chlorella salina* и *Nannochloropsis oculata* [218]. Однако природа уравнения Людекинга–Пирета ограничивает его применение только теми случаями, когда образование клеточных продуктов может быть описано теми же кинетическими соотношениями, которые моделируют рост. Хотя на рост клеток, образование крахмала и липидов могут влиять одни и те же факторы (например, доступность питательных веществ, свет, температура), их реакции обычно антагонистичны. Поэтому точное моделирование динамики крахмала и липидов может потребовать адекватного отделения кинетики образования продукта от кинетики роста клеток.

Поскольку и крахмал, и липиды являются внутриклеточными продуктами, работы по моделированию часто исключают эти компоненты из общей биомассы и рассматривают их как отдельные элементы. В работах [117, 219] предложены макроскопические кинетические модели для описания ограниченного азотом роста и динамики накопления липидов путём разделения общей биомассы на обезжиренную фракцию биомассы и липидную фракцию. Модель [117] прогнозировала фототрофный рост *Pseudochlorococcum* sp со светом в качестве лимитирующего воздействия. Эта модель была построена на основе того, что синтез липидов происходит в результате избытка фотосинтетически ассимилированного углерода по отношению к минимальной углеродной квоте (квота жизнеобеспечения), необходимой для клеточного роста, т.е. как только клеточная квота достигает своего минимального значения, любое увеличение биомассы происходит из-за образования липидов.

Модель [219] следовала аналогичной логике учёта ограничений азота и света, но также включала влияние уксусной кислоты (используя кинетику ингибирования) на синтез липидов во время миксотрофного периодического культивирования *C. reinhardti*. Точное моделирование производства липидов микроводорослями имеет большое значение для производства биодизельного топлива. Однако крахмал часто является предпочтительным поглотителем углерода в клетках микроводорослей [220, 221]. Таким образом, модели, способные учитывать одновременную динамику образования крахмала и липидов, ещё больше развивают предположение о том, что любой избыток ассимилированного углерода направлен только на образование липидов.

Модель, учитывающая как динамику крахмала (сахара), так и липидную динамику, была предложена в работе [222], где клетка была разделена на три углеродных пула (например, сахар, липиды и функциональная биомасса). Образование каждого из этих компарментов

было адекватно изображено с помощью кинетических выражений на основе модели Друпа, которые моделировали углеродный метаболизм *I. galbana* во время ограниченного азотом фототрофного роста. Следуя клеточной компартиментализации, предложенной в работах [116, 222], альтернативная квотная модель, учитывающая динамику сахара и липидов, была позже разработана в работе [204], но также учитывала влияние фосфора и температуры.

Кинетическая модель, предложенная в работе [114], включала аддитивную структуру для моделирования миксотрофной скорости роста *Chlorella vulgaris*, дополнительно направленную на отображение образования сахаров и липидов при лимитированном азотом росте. Хотя предсказания модели были подтверждены экспериментально, формулировка, использованная в работе [114], подразумевала, что клетка микроводоросли делится только на часть хранения (состоящую как из молекул крахмала, так и липидов) и функциональную часть, что препятствовало идентификации индивидуальных профилей крахмала и липидов. В работе [223] разработана комплексная аддитивная модель для описания ограниченной азотом миксотрофной динамики *Chlamydomonas reinhardtii*. Модель точно отражала индивидуальную динамику концентрации крахмала и липидов и дополнительно использовалась для определения оптимальных стратегий культивирования, которые значительно увеличивают производство этих веществ.

Как видно из вышеприведённых работ, предпринимаются усилия по разработке моделей культивирования микроводорослей, направленных на учёт формирования внутриклеточных молекул-накопителей. Как только прогнозируемость таких моделей будет полностью подтверждена, можно будет достоверно определить оптимальные условия культивирования на их основе. Например, на основе модели, предложенной в работе [204], было проведено исследование оптимизации [96] для определения условий, максимизирующих продуктивность биомассы и липидов или минимизирующих затраты на культивирование. Оптимальные условия культивирования на основе модели для максимальной липидной продуктивности были также определены и дополнительно подтверждены экспериментально в работе [100]. Было показано, что такие условия дают увеличение продуктивности липидов до 33% по сравнению с неоптимизированными условиями.

В работе [99] различные режимы культивирования для автотрофной продукции липидов были оптимизированы с помощью кинетической модели, которая рассматривала клетки как состоящие из углеводов, липидов, белков и функционального компартмента. Согласно результатам оптимизации, стратегии с наибольшим потенциалом повышения уровня липидов включали культивирование в стрессовых по

питанию условиях в двухстадийном режиме (липидная продуктивность 125 мг липидов/сут) или в режиме непрерывного культивирования (липидная продуктивность 133,2 мг липидов/сут). Хотя предсказанная этой моделью оптимизированная липидная продуктивность не была подтверждена экспериментально, она находится в пределах диапазона, описанного в открытой литературе [99], и эти стратегии дают ценную информацию с точки зрения проектирования технологических процессов.

Хотя не многие работы по моделированию берут на себя задачу дальнейшего определения оптимальных сценариев культивирования биомассы микроводорослей и продуктов, многообещающие результаты, полученные с помощью стратегий моделирования, таких как в [96 – 99, 223] подчеркивают необходимость адекватного построения, калибровки, валидации и дальнейшего использования макроскопических моделей в качестве мощных инструментов для разработки, оптимизации и масштабирования технологий культивирования микроводорослей.

4.3. ПЕРСПЕКТИВНЫЕ МЕТОДЫ МОДЕЛИРОВАНИЯ БИОХИМИЧЕСКИХ ПРЕВРАЩЕНИЙ В КЛЕТКАХ

Использование информационных ресурсов и программных средств ускоряет и повышает эффективность принятия решений при создании современных технологий на основе микроводорослей. Геномы ряда штаммов микроводорослей были секвенированы и размещены в общедоступных базах данных: UniProt (Universal Protein Resource) [224] BRENDA (Braunschweig Enzyme Data base) [225], NCBI (National Center for Biotechnology Information) [82], Ex PASy data base [226]. Ресурс Algae Base [227] содержит обширную информацию о более чем 160 000 разновидностях водорослей и постоянно расширяет своё наполнение. Распознавание аминокислотных последовательностей может быть выполнено с использованием таких ресурсов, как BLAST, HMMER, Inter Pro Scan и др.

Метаболические модели, основанные на геноме (англ. Genome-scale metabolic models – GSMs), являются математическим представлением всей доступной биохимической и геномной информации о конкретном микроорганизме [228]. GSMs широко использовались для моделирования биохимических процессов при поиске оптимальных вариантов модификации штаммов. Разработаны различной степени полноты метаболические модели для таких родов микроводорослей, как

Chlamydomonas [195], *Chlorella* [229], *Nannochloropsis* [230], *Synechocystis* [231], *Tetraselmis* [232], *Monoraphidium* [233], *Ostreococcus* [234], *Tisochrysis* [235] и *Phaeodactylum* [236]. Они позволили получить ключевую информацию о центральном углеродном обмене, интенсивности реакций в различных органеллах этих организмов в зависимости от условий культивирования.

Математическое моделирование метаболических потоков в клетках микроводорослей всё чаще используется при поиске оптимальных режимов культивирования и оценке потенциала штаммов для синтеза целевого набора ценных компонентов. Это стало возможным благодаря созданию и наполнению открытых баз данных, позволяющих на основе данных генома секвенированных штаммов реконструировать стехиометрическую матрицу и анализировать интенсивность биохимических реакций, протекающих в клетке при разных условиях. Наиболее крупными ресурсами, которые содержат необходимую при решении таких задач информацию, являются KEGG, Meta Cys, Gen Bank, EMBL-Data base, DNA-Data base of Japan (DDBJ) [237 – 240].

Метаболические модели учитывают три типа ограничений:

1) физико-химические, которые основаны на законах сохранения массы и энергии, зависимости скорости реакции от биохимических циклов и термодинамики;

2) связь с окружающими клетку условиями, такими как доступность питательных веществ, акцепторов электронов и других внешних условий (например, поглощение фотонов);

3) регуляторные, к которым относятся состав и активность ферментов, которые помогают согласовать данные об экспрессии и точные взаимосвязи в цепочке «ген – белок – связанные реакции» [241].

У фототрофных организмов часть физико-химических ограничений принимается исходя из термодинамических условий относительно направления, обратимости или необратимости реакций, которые определяются путём расчёта свободной энергии Гиббса. Учёт связи с окружающими клетку условиями обычно основан на измеренных экспериментальных значениях освещённости, интенсивности поглощения питательных веществ.

На сегодняшний день наиболее часто для получения GSMs используют метод анализа метаболических потоков (англ. Flux Balance Analysis – FBA) [242], реализованный в ряде программных продуктов (COBRA Toolbox для Matlab, OptFlux, FASIMU). Для создания FBA-модели осуществляется аннотация генома клетки с последующей рас-

шифровкой сети метаболических реакций, устанавливаются ограничения модели, и выбирается целевая функция для оптимизации. После этого формулируется задача линейного программирования для анализа балансов потоков метаболитов [227]. Вполне обоснованно принимается допущение о том, что все клетки достаточно выросли, чтобы полноценно функционировать, и синхронно работают в стационарном режиме. В качестве ограничений для FBA-анализа задаются значения концентраций метаболитов или диапазоны их возможного изменения при биосинтезе целевых продуктов в стационарных условиях. Ограничения определяют диапазон скоростей, с которыми каждый метаболит потребляется или производится в результате биохимических реакций [243]. В качестве целевых функций используются: максимизация роста биомассы [244], минимизация производства АТФ [245], минимизация поглощения питательных веществ, максимизация производства метаболитов, максимизация производства биомассы и метаболитов [246]. Результаты, полученные с использованием FBA-анализа, могут быть применены для определения стационарных метаболических потоков [247]. Так же FBA-анализ можно использовать для прогнозирования выхода важных кофакторов, таких как АТФ, НАДН или НАД(Ф)Н [248]. К недостаткам FBA-анализа можно отнести то, что данный подход требует адаптации под каждый конкретный организм (необходима уникальная метаболическая карта организма) и не может быть использован для моделирования динамики процесса биосинтеза [249]. FBA доказал свою эффективность для количественного анализа метаболитов, синтезируемых клетками, находящимися в стационарных лабораторных условиях.

Снятие допущения стандартного FBA о стационарности процессов необходимо для моделирования динамики жизнедеятельности фотосинтетических микроорганизмов [250]. Эти организмы эволюционировали под циклический режим смены световой и темновой фаз, сопровождающийся переключением между разными фенотипическими состояниями. В периоды световой фазы неорганический углерод фиксируется в углеродных соединениях (углеводы и липиды), которые потребляются в период темновой фазы для осуществления жизненно важных для клеток функций. Такие особенности фотосинтетиков приводят к постоянно меняющемуся составу биомассы, что ограничивает применимость FBA для решения широкого круга задач. При исключении этого предположения для описания процессов, проходящих в клетках, возникает необходимость получать систему дифференциаль-

но-алгебраических уравнений. Такой подход получил название динамический FBA. Для решения подобных задач предлагается использование либо подхода, основанного на решении динамической задачи оптимизации, либо на решении статической задачи оптимизации [250].

При решении динамической задачи оптимизации рассчитываются временные профили потоков и концентрации метаболитов за весь интересующий промежуток времени, при этом расчёт выполняется только один раз. При решении задачи статической оптимизации исследуемый временной интервал разбивается на отрезки и для каждого интервала находится оптимальное значение. Для получения общей картины проводится дополнительная обработка полученных оптимальных значений концентраций метаболитов. Сложность использования описанных подходов для решения текущих инженерных задач заключается в необходимости получения экспериментальных данных для расчёта кинетических коэффициентов реакций с участием конкретного микроорганизма при разных условиях осуществления реакций в биореакторе. Поэтому исследования, направленные на разработку методик получения таких данных, имеют большую степень актуальности.

Другой важной проблемой, эффективное решение которой может значительно увеличить экономическую привлекательность использования микроводорослей, является разработка конструкций промышленных биореакторных систем, способных обеспечить культивирование больших объёмов биомассы в одинаковых оптимальных условиях, определённых на стадии предварительных лабораторных исследований. Проблема масштабного перехода с лабораторного объёма биореактора (обычно 1...10 л) до промышленного (десятки и сотни м³) является вследствие усиливающегося влияния, вызываемого градиентом изменения технологических переменных (например pH, концентрациями растворённого кислорода, CO₂, компонентов субстрата, экзометаболитов, количеством света и др.) на интенсивность и направленность метаболических реакций и, как следствие, соотношение ценных компонентов в клетках [251]. Стремительное развитие вычислительной техники, измерительных приборов и программного обеспечения позволило активнее использовать методы вычислительной гидродинамики (англ. Computational Fluid Dynamics – CFD) для расчёта и проектирования фотобиореакторов. Использование CFD путём решения уравнения Навье–Стокса позволяет рассчитать гидродинамику потоков в фотобиореакторах и с использованием моделей кинетики

роста микроводорослей перейти к прогнозу содержания в клетках метаболитов. Исходными данными для проведения таких расчётов являются геометрия фотобиореактора, тип рассекателя подаваемого газового потока, наличие дополнительного перемешивающего устройства и характеристики находящихся в реакторе фаз. Совместное использование методов FBA и CFD для проектирования фотобиореакторов позволило бы перейти на новый уровень энерго- и ресурсосбережения, однако для широкого использования этих подходов требуется систематизация процедур идентификации коэффициентов математических моделей и разработки быстродействующих алгоритмов решения их уравнений.

В заключение можно отметить, что задача разработки оптимальных систем культивирования микроводорослей, ориентированных на крупномасштабное производство биомассы, может быть достигнута с помощью интеграции экспериментальных и вычислительных подходов. Можно сделать вывод, что прогностические модели являются подходящими инструментами для оценки и оптимизации биопроцессов, подверженных воздействию многочисленных факторов, ограничивающих рост микроводорослей.

Были рассмотрены различные математические модели, описывающие рост клеток микроводорослей и накопление углеводов и липидов в ответ на различные лимитирующие факторы, такие как концентрации питательных веществ, свет или температура. Как видно из таблицы, в которой обобщены особенности и потенциальные области применения моделей, рассмотренных в данном исследовании, использование прогностических моделей имеет множество применений, поскольку они могут помочь быстро описать результат культивирования без необходимости проведения дорогостоящих и трудоёмких экспериментальных испытаний. Аналогичным образом модели могут быть использованы для необходимых исходных данных для достижения желаемой цели (например, максимизация выхода биомассы или образования углеводов/липидов), которая определяется как критерий оптимизации.

Выбор наиболее подходящей структуры модели будет зависеть от целей, для которых она предназначена, и поэтому следует учитывать баланс между прогностической способностью модели и её математической сложностью. Использование надёжных систем моделирования может помочь в определении оптимальных сценариев культивирования, что создаёт большие преимущества для создания производств по переработке продуктов на основе биотехнологии микроводорослей.

Контрольные вопросы

1. С какой целью создают математические модели процесса культивирования микроводорослей? Назовите основные факторы и процессы, которые должны быть учтены в модели культивирования микроводорослей.

2. Проанализируйте модель Моно. Охарактеризуйте параметры уравнения Моно.

3. Как в моделях кинетики роста учитывается влияние на рост микроорганизмов концентрация субстрата?

4. Расскажите о влиянии температуры на рост микроорганизмов, приведите уравнение, учитывающее влияние температуры на рост.

5. Перечислите основные базы данных, содержащие информацию о геномах различных видов фотоавтотрофов.

6. Приведите примеры уравнений кинетики накопления продуктов метаболизма.

Глава 5

АППАРАТУРНО-ТЕХНОЛОГИЧЕСКОЕ ОФОРМЛЕНИЕ ПРОЦЕССА КУЛЬТИВИРОВАНИЯ БИОМАССЫ

Фотобиореактор – это оборудование, в котором используется источник света для культивирования фотоавтотрофных микроорганизмов. Системы культивирования микроводорослей обычно делятся на два типа: открытые и закрытые. Открытые фотобиореакторы – хорошо освещаемые неглубокие ёмкости, в которые должна быть обеспечена возможность подачи воды и питательных веществ [88]. Открытая система предполагает контакт культуральной жидкости с атмосферой и обладает следующим ключевым преимуществом – естественное освещение солнечным светом, который является необходимым условием для роста фотоавтотрофных микроорганизмов.

5.1. ОТКРЫТЫЕ СИСТЕМЫ ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ БИОМАССЫ

Существует три типа открытых систем: открытая система без перемешивания, круглый фотобиореактор и биореактор с системой каналов.

Открытая система без перемешивания. Большинство естественных водных систем не имеют перемешивающего устройства, что не позволяет обеспечить хорошую гидродинамику в системе, но при этом значительно снижается стоимость культивирования в коммерческих масштабах. Распространёнными примерами открытых систем без перемешивания являются озёра, лагуны и пруды. Использование данных систем обеспечивает экономичность, простоту, удобство эксплуатации и мониторинга процесса культивирования. Глубина естественного пруда обычно составляет менее полуметра, что позволяет свету проникать в воду и поглощаться клетками водорослей. В открытых системах в коммерческих целях можно культивировать некоторые виды водорослей, например *Dunaliella salina* [252].

Круглый фотобиореактор с перемешивающим устройством. Круглые фотобиореакторы используются в основном для культивирования *Chlorella sp.* в Азии [253]. Такая открытая система для культивирования фототрофов имеет глубину 20...30 см и диаметр 40...50 м. В центре фотобиореактора установлен вращающийся рычаг, который вращается как стрелка на циферблате часов, выполняя функцию лопа-

стного колеса (рис. 5.1). Перемешивание культуральной среды и клеток микроводорослей позволяет обеспечить более эффективное снабжение клеток необходимыми для роста компонентами и обеспечить более высокие показатели роста клеток по сравнению с режимом без перемешивания, но поскольку фотоавтотрофы подвергаются воздействию окружающей среды, контаминации избежать невозможно. Согласно исследовательской литературе, производительность в круглом фотобиореакторе с перемешиванием колеблется от 8,5 до 21 г/(м²·сутки) [254].

Открытый фотобиореактор с системой каналов. В течение последних 40 лет открытый фотобиореактор с системой каналов (рис. 5.2) является самым популярным и широко используемым типом открытой системы для крупномасштабного культивирования и коммерческого производства продуктов из микроводорослей. Такой фотобиореактор был впервые создан Освальдом в 1960 годах, и его внешний вид и структура за 40 лет не претерпели больших изменений [255]. Наиболее распространёнными видами микроводорослей, которые можно выращивать с использованием данной системы культивирования, являются *Chlorella*, *Spirulina*, *Dunaliella* и *Hematococcus*, причём культивирование можно осуществлять как на чистых питательных средах, так и с использованием сточных вод, также в эту систему можно интегрировать технологию улавливания CO₂ с электростанций.

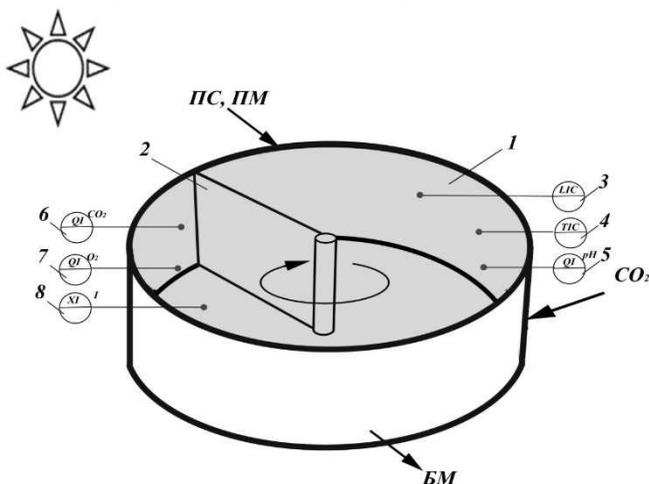


Рис. 5.1. Круглый фотобиореактор:

- 1 – корпус; 2 – перемешивающее устройство; 3 – датчик уровня;
- 4 – датчик температуры; 5 – датчик рН; 6 – датчик растворённого CO₂;
- 7 – датчик растворённого O₂; 8 – датчик освещённости

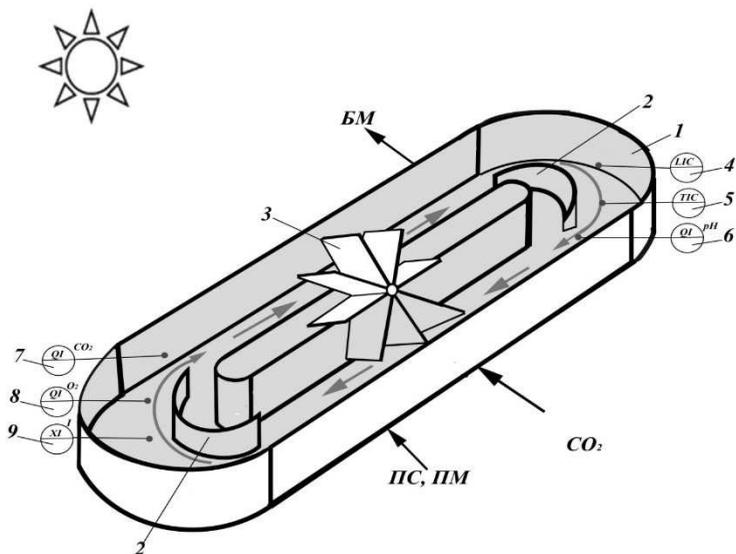


Рис. 5.2. Открытый фотобиореактор с системой каналов:

- 1 – корпус; 2 – перегородки; 3 – лопастное колесо; 4 – датчик уровня;
 5 – датчик температуры; 6 – датчик pH; 7 – датчик растворённого CO_2 ;
 8 – датчик растворённого O_2 ; 9 – датчик освещённости

Материалами для строительства открытого фотобиореактора с системой каналов могут являться бетон или пластик. Такой фотобиореактор может быть расположен на земле или углублён в землю и отделён от неё специальным материалом, чтобы предотвратить проникновение жидкости из системы культивирования в почву. Конфигурации фотобиореактора с каналами могут быть различными: один канал или их группа. Глубина канала обычно варьируется от 15 до 50 см. Большинство фотобиореакторов такого типа состоит из лопастного колеса, перегородок и каналов. Лопастное колесо обеспечивает перемешивание и движение потока жидкости, обеспечивая взвешенное состояние клеток микроводорослей в культуральной среде, и предотвращает их седиментацию. Перегородки регулируют направление потока и позволяют избежать возникновения застойных зон, в которых наблюдается оседание клеток. Таким образом, клетки микроводорослей достаточно хорошо перемешиваются и двигаются в непрерывном потоке, получая при этом солнечный свет и CO_2 из атмосферы. Важным параметром таких фотобиореакторов является соотношение длины и ширины, так как большая ширина может привести к ослаблению скорости течения, а большая длина – к использованию больших пло-

щадей земли. По сравнению с другими открытыми системами культивирования в таком фотобиореакторе отличается высокой эффективностью и удобством, поэтому данный тип биореактора чаще всего выбирается для крупномасштабного культивирования микроводорослей на открытом воздухе. Производительность данной системы культивирования может достигать 60...100 мг/(л·сутки) [256].

Хотя открытые системы культивирования являются наиболее экономичными и устойчивыми при крупномасштабном коммерческом культивировании микроводорослей, существует множество проблем, делающих их непригодными для производства продуктов из микроводорослей с высокой добавочной стоимостью (продукты тонкого химического синтеза и натуральные пигменты и др.). К наиболее важным недостаткам таких систем можно отнести:

- 1) контаминацию другими микроорганизмами (нежелательными видами водорослей, бактериями, грибами или вирусами);
- 2) эффект затемнения клеток в толще суспензии;
- 3) значительное испарение воды с поверхности суспензии микроводорослей;
- 4) неэффективное перемешивание.

При использовании открытых систем обычно используется непрерывный режим культивирования. Данный режим надёжен, позволяет получить большее количество биомассы и/или целевого продукта, легко регулируя условия культивирования и не прерывая производственный процесс, что является экономически выгодным [257].

5.2. ЗАКРЫТЫЕ СИСТЕМЫ ДЛЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ

Для решения проблем, возникающих при использовании открытых систем культивирования, и для увеличения производительности биомассы микроводорослей была разработана закрытая система культивирования, которая не допускает прямого массообмена между культуральной средой и атмосферой и способна обеспечить контролируемое культивирование (точная дозировка и контроль необходимых компонентов, таких как свет, CO₂, температура, концентрация питательных веществ) [258, 259]. Закрытая система не взаимодействует с окружающей атмосферой, и может быть расположена как на открытом воздухе с целью использования естественного освещения, так и в помещении с искусственным освещением.

Закрытые фотобиореакторы представляют собой освещённые сосуды, в которых культура не находится в прямом контакте с окружающей средой, поскольку газообмен с атмосферой происходит через стерильные фильтры [260], и, следовательно, риск заражения значи-

тельно снижается. Себестоимость биомассы микроводорослей, полученной с использованием закрытой системы культивирования, часто высока, что обусловлено необходимостью поддержания герметичности и контроля процесса. Кроме того, для обеспечения оптимальных условий освещения требуется большое количество энергии, что также увеличивает стоимость. Поэтому закрытые фотобиореакторы, как правило, редко используются в крупномасштабном производстве. Закрытые системы имеют большое значение при производстве продуктов с высокой добавочной стоимостью (продукты тонкого химического синтеза, используемые в биофармацевтике, косметике, продуктах для здоровья человека и др.), в связи с этим разработка подходящих и устойчивых закрытых фотобиореакторов имеет большой потенциал.

Существует несколько типов фотобиореакторов и различные способы их классификации. В работе [260] они разделены на две группы: стандартные фотобиореакторы, которые являются наиболее традиционными и широко используемыми в промышленных производствах, и нестандартные фотобиореакторы, имеющие оригинальную конфигурацию и используемые только в лабораторных масштабах. Традиционные фотобиореакторы включают в себя: плоскпанельный, цилиндрический (барботажный и эрлифтный), трубчатый, реактор с мешалкой и их модифицированные конфигурации.

Плоскпанельный фотобиореактор. Данный тип фотобиореактора (рис. 5.3) представляет собой прямоугольный сосуд и используется для культивирования фотоавтотрофов как на чистых средах, так и на сточных водах. Он может быть расположен как в помещении с использованием в качестве источника света искусственного освещения, так и на открытом воздухе. Плоскпанельные фотобиореакторы изготавливаются из прозрачных или полупрозрачных материалов (стекло, оргстекло, поликарбонат, пластиковые пакеты и т.д.). Чаще всего источник света располагается близко к поверхности панели, поэтому фотоны света могут легко проникать в культуральную жидкость. Хороший массообмен и перемешивание клеток чаще всего обеспечивается за счёт барботажной суспензии пузырьками газовой смеси. Для подачи пузырьков воздуха через воздухораспределитель обычно используется насос, обеспечивающий рециркуляцию газовой смеси. Удаление отработанного газа осуществляется на границе раздела газовой и жидкой фаз. В случае расположения реактора на открытом воздухе его располагают под определённым углом к горизонту в целях обеспечения необходимой для роста клеток интенсивности освещения.

Что касается различных возможных режимов работы данного фотобиореактора, следует отметить, что периодический режим может

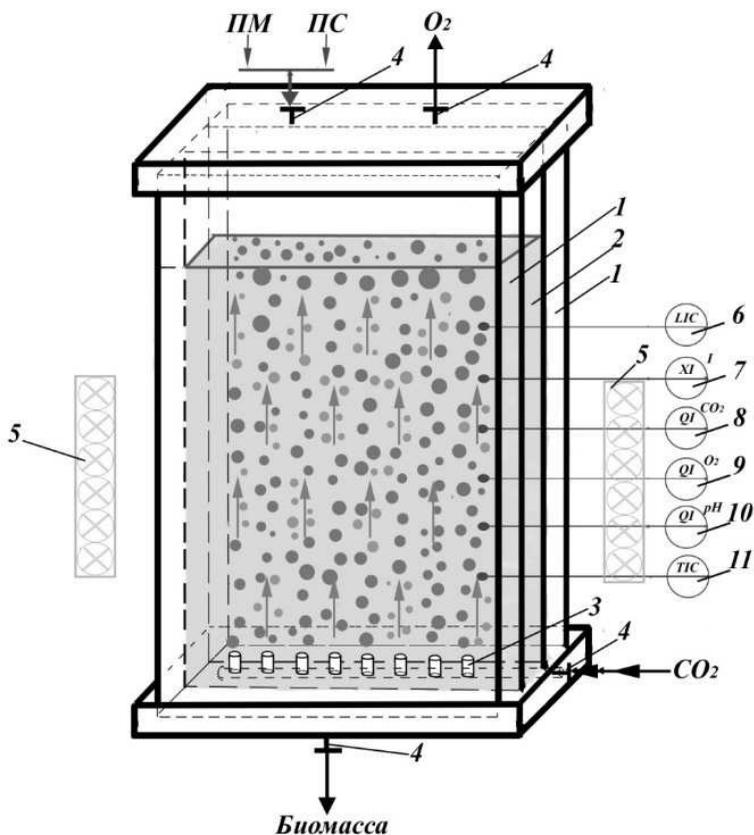


Рис. 5.3. Фотобиореактор с плоской панелью:

- 1 – корпус; 2 – прозрачный поликарбонатный слой; 3 – барботёр; 4 – штуцер;
 5 – лампы; 6 – датчик уровня; 7 – датчик освещённости;
 8 – датчик растворённого CO_2 ; 9 – датчик растворённого O_2 ;
 10 – датчик pH; 11 – датчик температуры

ограничить рост микроорганизмов из-за истощения питательных веществ в культуральной среде, а также из-за чрезмерного накопления побочных продуктов метаболизма. Следовательно, постоянное введение свежей среды и отбор культуральной жидкости может решить данные проблемы. С точки зрения промышленных масштабов непрерывный режим производства позволяет достичь от 2,5 до 5 раз большей эффективности по сравнению с системой, работающей в периодическом режиме [260].

В работе [261] были изучены такие параметры, как влияние различных времен пребывания и режимов освещения для производства белка из микроводорослей в фотобиореакторах с плоской панелью. Исследование показало, что влияние времени пребывания варьируется в зависимости от состава биомассы, оказывая большее влияние на штаммы цианобактерий, чем на микроводоросли.

Основными преимуществами плоскопанельных фотобиореакторов являются:

- высокое отношение площади поверхности к объёму;
- низкое накопление растворённого кислорода;
- удобство очистки;
- устройство является гибким и легко масштабируется.

Основными недостатками:

– сложность обеспечения контроля температуры в разных зонах фотобиореактора;

- гидродинамическое давление, возникающее при аэрации;
- биообрастание внутренней поверхности.

Цилиндрические фотобиореакторы. Существует два типа цилиндрических реакторов: барботажный и эрлифтный. И у барботажного, и у эрлифтного фотобиореакторов в нижней части расположен воздушораспределитель, преобразующий подаваемый газ в мелкие пузырьки в целях обеспечения суспензии клеток водорослей углекислым газом, улучшения массообмена. Барботажный фотобиореактор (рис. 5.4) является полым внутри, поэтому движение потока жидкости осуществляется только за счёт движения пузырьков, выпускаемых воздушораспределителем.

Обычно фотобиореакторы данного типа имеют форму цилиндра, высота которого превышает диаметр более чем в 2 раза, и получают освещение от внешних источников. Вблизи осевой области фотобиореактора находится «тёмная зона», образуемая из-за ослабления освещения в толще суспензии из-за высокой концентрации клеток. В барботажном фотобиореакторе благодаря движению пузырьков клетки водорослей перемещаются от внешней освещённой поверхности к осевой «тёмной зоне», при этом осуществляется так называемый «эффект световой вспышки», способствующий повышению эффективности фотосинтеза и перемешиванию микроводорослей. Единственным параметром, который необходимо учитывать во время работы барботажного фотобиореактора, является скорость потока газа, оказывающая влияние на световой и темновой циклы клеток. Преимуществами барботажного реактора являются: низкая себестоимость биомассы, большое отношение площади поверхности к объёму, простая конфигурация

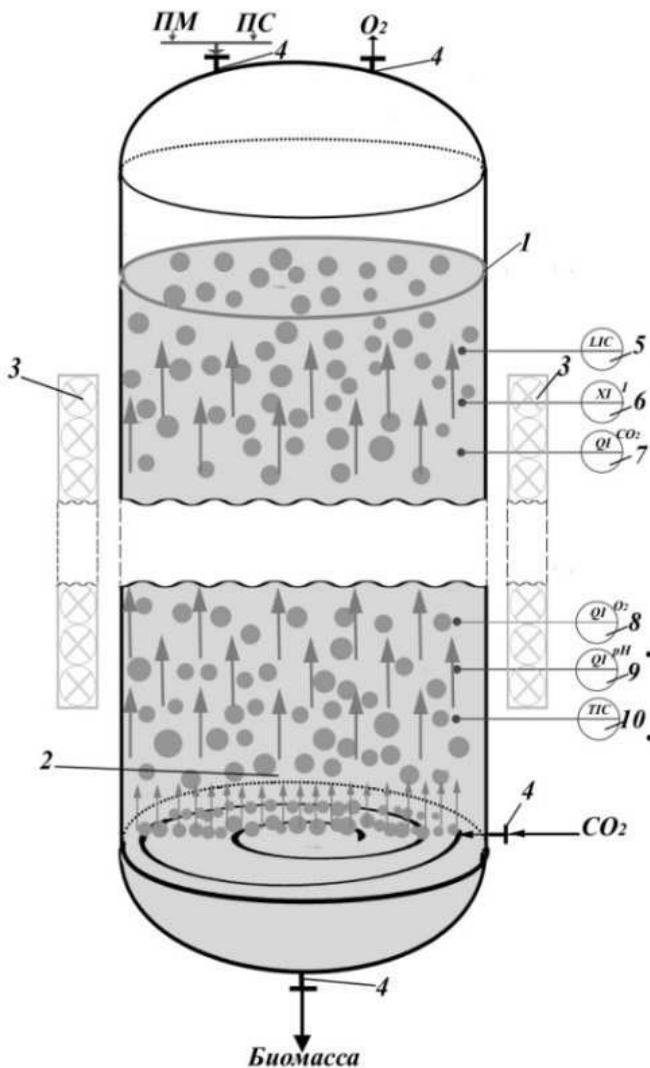


Рис. 5.4. Барботажный фотобиореактор:
 1 – корпус; 2 – барботёр; 3 – лампы; 4 – штуцер; 5 – датчик уровня;
 6 – датчик освещённости; 7 – датчик растворённого CO_2 ;
 8 – датчик растворённого O_2 ; 9 – датчик pH; 10 – датчик температуры

и хороший массообмен, позволяющий всем клеткам в достаточном количестве получать фотоны света и питательные вещества [5, 262].

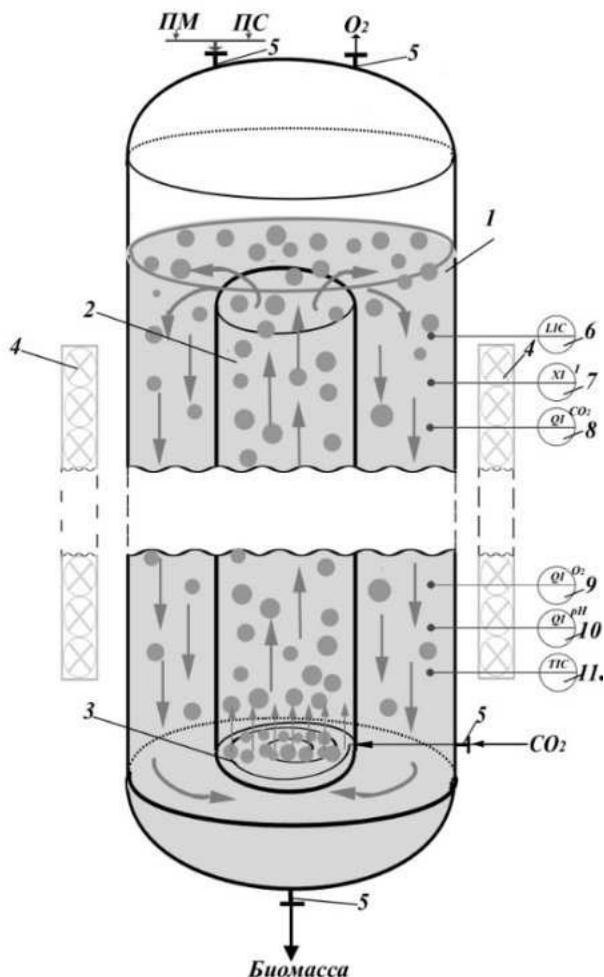


Рис. 5.5. Эрлифтный фотобиореактор:

- 1 – корпус; 2 – вертикальный канал; 3 – барботёр; 4 – лампа; 5 – штуцер;
 6 – датчик уровня; 7 – датчик освещённости; 8 – датчик растворённого CO_2 ;
 9 – датчик растворённого O_2 ; 10 – датчик pH; 11 – датчик температуры

Эрлифтный фотобиореактор можно рассматривать как усовершенствованную версию барботажного реактора: данный тип реактора имеет внутри две взаимосвязанные зоны. Одна из них представляет собой вертикальный канал, а другая – зону распада пузырьков (рис. 5.5). Вертикальный канал имеет форму концентрической трубы, внутрь которой

подаётся газовоздушная смесь, за счёт которой суспензия поднимается вверх. Жидкость с клетками из вертикального канала попадает к внешней освещённой поверхности реактора и затем вновь опускается вниз, и вновь попадает в зону вертикального канала. Данный процесс «воздушного подъёма», являющийся «эффектом световой вспышки» способствует повышению эффективности фотосинтеза.

Для большинства эрлифтных реакторов большое значение имеет скорость подачи газа, оптимальная величина которой позволяет обеспечить и хороший массообмен, позволяющий всем клеткам в достаточном количестве получать фотоны света, и питательные вещества. Такие конструкции фотобиореактора имеют следующие преимущества:

- высокая эффективность массопереноса;
- хорошее перемешивание;
- низкое потребление энергии;
- возможность иммобилизации микроводорослей на специальных движущихся частицах.

Трубчатые фотобиореакторы. Горизонтальные трубчатые фотобиореакторы также имеют наибольшее отношение поверхности к объёму, что способствует максимальному освещению суспензии микроводорослей. Горизонтальные трубчатые реакторы состоят из трубок, которые могут быть расположены горизонтально, вертикально, под углом к горизонту, спиралевидно, и в других вариациях. Диаметр труб варьируется от 10 до 60 мм, а длина может достигать нескольких сотен метров. Во всех представленных типах реализуются похожие условия. Важными параметрами большинства трубчатых реакторов являются скорость потока и эффективность перемешивания в радиальном направлении. Схема горизонтального трубчатого реактора представлена на рис. 5.6. За трубками расположена система газообмена, с помощью которой осуществляется подача газовой смеси, свежей питательной среды, а также охлаждение культуральной жидкости и удаление отработанного газа (насыщенного кислородом). Газ в трубки подаётся с помощью насоса. Благодаря этому культуральная жидкость циркулирует и перемещается между системой газообмена и трубками, а клетки микроводорослей не оседают. Процесс культивирования является непрерывным. Трубчатые фотобиореакторы используются, например, для производства каротиноида астаксантина из микроводоросли *Haematococcus pluvialis* или производства пищевых добавок из микроводоросли *Chlorella vulgaris* [88].

Несмотря на самое большое соотношение поверхности к объёму и непрерывный процесс культивирования горизонтальные трубчатые фотобиореакторы не получили широкого распространения. Прежде

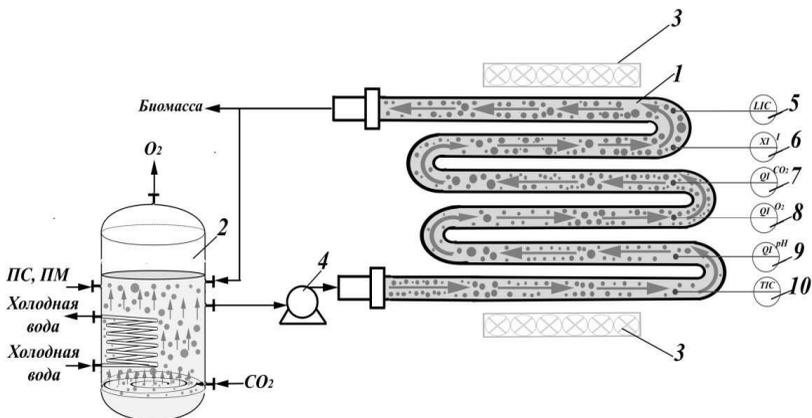


Рис. 5.6. Трубчатый фотобиореактор:

- 1, 2 – корпуса; 3 – лампы; 4 – насос; 5 – датчик уровня;
 6 – датчик освещённости; 7 – датчик растворённого CO_2 ;
 8 – датчик растворённого O_2 ; 9 – датчик pH; 10 – датчик температуры

всего, это связано с неравномерным массопереносом в радиальном направлении, что способствует неоднородному распределению температуры и молекул питательной среды и CO_2 в суспензии, а также приводит к накоплению растворённого кислорода. Кроме того, частое биообрастание внутренней поверхности трубок и сложность их очистки значительно затрудняет организацию процесса непрерывного культивирования и требует больших затрат на техническое обслуживание. К преимуществам данных систем культивирования можно отнести высокую производительность биомассы микроводорослей.

Закрытый фотобиореактор с мешалкой. В области биологической инженерии активно используются ферментаторы с перемешивающим устройством для культивирования гетеротрофных микроорганизмов. На их основе создан фотобиореактор с перемешивающим устройством и внешним источником света (флуоресцентные лампы или оптическое волокно) для культивирования микроводорослей (рис. 5.7).

Перемешивание суспензии в данной конструкции фотобиореактора осуществляется за счёт механического движения мешалки, приводимой в движение электродвигателем, в связи с этим реактор отличается хорошими тепло- и массообменом. При вращении жидкости с высокой скоростью могут возникнуть вихревые потоки, для их уменьшения вокруг внутренней стенки такой системы культивирования устанавливаются перегородки. Подача CO_2 осуществляется через воздухораспределитель, расположенный в нижней части фотобиореактора.

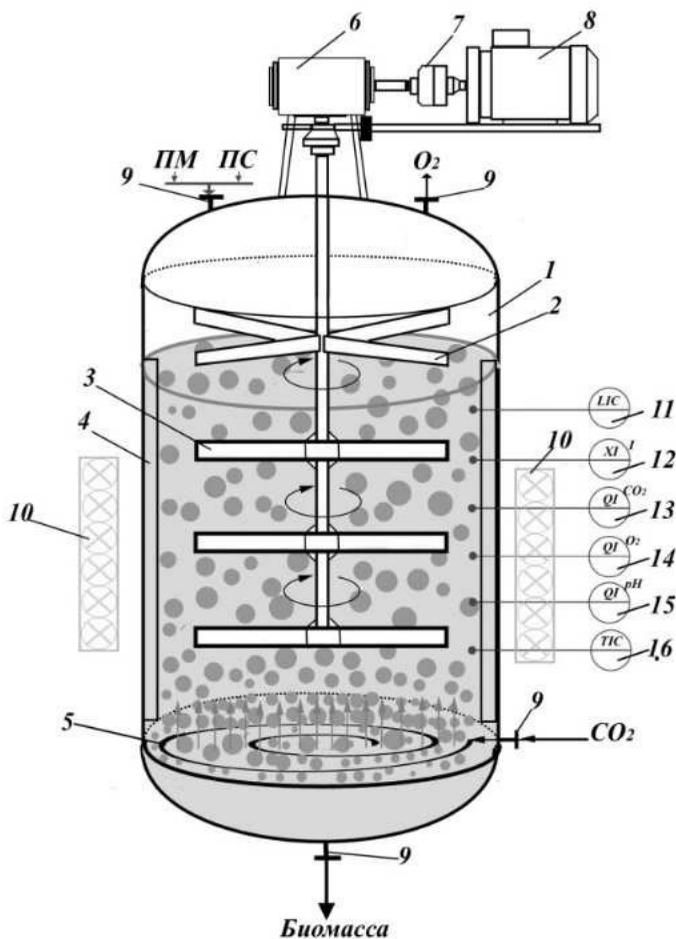


Рис. 5.7. Фотобиореактор с мешалкой:

- 1 – корпус; 2 – пеногаситель; 3 – перемешивающее устройство;
 4 – перегородки; 5 – барботёр; 6 – привод; 7 – муфта; 8 – электродвигатель;
 9 – штуцер; 10 – лампа; 11 – датчик уровня; 12 – датчик освещённости;
 13 – датчик растворённого CO_2 ; 14 – датчик растворённого O_2 ;
 15 – датчик pH; 16 – датчик температуры

Для разрушения пузырьков и повторного их ресуспендирования реактор снабжён пеноотделителем. Жидкостью заполняется только 70... 80% от объёма реактора, поэтому оставшееся пространство удобно для газообмена.

Данный тип фотобиореактора используется в полунепрерывном режиме для очистки промышленных стоков и для получения биомассы, богатой углеводами, что позволяет перерабатывать отходы и одновременно выращивать биомассу для получения ценных компонентов [260].

Фотобиореактор с перемешивающим устройством характеризуется хорошими гидродинамическими свойствами, позволяет получать высокую концентрацию клеток биомассы водорослей в культуральной жидкости, но при этом потребляет большое количество энергии. Кроме того, низкое отношение площади поверхности к объёму не позволяет обеспечить хорошее обеспечение клеток световым излучением, что снижает эффективность фотосинтеза.

К нестандартным фотобиореакторам относятся гибридные системы, которые сочетают в себе как открытые, так и закрытые конфигурации и мембранные установки для обеспечения высокой производительности биомассы и меньшего потребления энергии [260]. В комбинированных системах на первом этапе культура выращивается в закрытом фотобиореакторе, после получения желаемой концентрации биомассы среда перекачивается в открытую систему для накопления клетками различных метаболитов. В данной комбинированной системе обеспечена улучшенная освещённость культуры и подача углекислого газа. Однако, несмотря на теоретические преимущества, наличие открытой системы создаёт сложность масштабирования и высокий риск загрязнения.

Мембранные фотобиореакторы используются в технологии очистки сточных вод микроводорослями. Мембранный модуль предназначен для разделения жидкости (сточные воды) и твёрдого вещества (биомасса). Таким образом, можно получить более высокую концентрацию биомассы без применения дорогостоящих методов концентрирования [263]. Несмотря на свои преимущества, мембранные фотобиореакторы применяются для очистки сточных вод с низкой концентрацией загрязняющих веществ, в которых концентрация азота и фосфора ниже 60 и 7 мг/л соответственно.

При культивировании в закрытом фотобиореакторе возможно использование иммобилизации клеток фотоавтотрофных микроорганизмов на различных носителях. Носители для иммобилизации подразделяют на природные и синтетические. В качестве носителей для иммобилизации фотоавтотрофных микроорганизмов часто используют стекло, пластик, дерево, натуральные полисахариды (агар-агар, целлюлозу, альгинат, каррагинан, хитозан), синтетические полимеры (полиакриламид, полиуретан, поливинилхлорид, полипропилен, полисульфон, эпоксидная смола) [264, 265]. Идеальный носитель не должен

угнетать их жизнедеятельность, а также препятствовать массообмену и блокировать свет. Носитель должен обладать высокой механической, химической и биологической стойкостью, а также технологичностью. Кроме того, он должен быть недорогим, надёжно удерживать клетки и обладать высокой гидрофильностью (без неё невозможны реакции в водной среде). Для использования иммобилизованных культур разрабатываются специальные биоплёночные фотобиореакторы, ориентированные на культивирование фотоавтотрофных микроорганизмов в целях получения биомассы и ценных метаболитов, а также для биоремедиации сточных вод.

Как показывает анализ источников, существует множество проблем, с которыми приходится сталкиваться при разработке фотобиореакторов, особенно при организации процесса культивирования в промышленных масштабах. Главными недостатками, с которыми сталкиваются конструкторы, при проектировании как закрытых, так и открытых систем культивирования микроводорослей и цианобактерий, являются выбор и расположение источников света. Организация освещения фотобиореактора – это критический фактор, влияющий на эффективность биоутилизации углекислого газа. Наиболее перспективными вариантами организации освещения являются варианты, сочетающие естественный источник – солнечный свет, а также инновационные искусственные источники света (например, светодиоды и оптическое волокно). Так же проблемой промышленных фотобиореакторов можно назвать явление самозатемнения клеток, которое характерно для большинства конструкций и наблюдающееся при высоких концентрациях клеток в суспензии. Выбор способа её решения будет зависеть от особенностей физиологии, морфологии и биохимии культивируемых видов микроводорослей и цианобактерий.

Сравнение фотобиореакторов различной конструкции позволяет сделать выводы о том, что открытые системы чаще предполагают использование естественных ресурсов (излучение солнца, температура окружающей среды, углекислый газ из атмосферы), что снижает себестоимость биомассы, недостатком же открытых систем является сложность обеспечения постоянной температуры культивирования, постоянный газообмен с атмосферой и угроза контаминации. Закрытые системы позволяют обеспечить контроль условий культивирования и снизить вероятность контаминации, но при этом значительно возрастают затраты на обеспечение постоянных температуры, уровня освещённости. Перспективными в технологии биоутилизации углекислого газа являются конструкции фотобиореакторов закрытого типа, в которых

будет обеспечена значительная площадь поверхности массообмена между жидкой и твёрдой фазами (питательная среда и фотосинтетические автотрофные микроорганизмы) и газовоздушной смесью, содержащей углекислый газ. В качестве источника освещения возможно применение естественного освещения солнечного света, а также искусственных источников, расположенных в потоке жидкой фазы. Закрытые фотобиореакторы по сравнению с открытыми системами культивирования отличаются большей эффективностью, поскольку в процессе их использования легче контролировать условия культивирования. Однако при использовании закрытых фотобиореакторов возникает несколько проблем: сложность в эксплуатации, трудность очистки и масштабирования.

Сведения по продуктивности различных систем культивирования на основе открытых источников информации представлены в табл. 5.1.

5.1. Сведения о продуктивности различных типов фотобиореакторов

| Тип | Вид продуцента | Продуктивность, г/(л·сут) |
|---|---------------------------------|---------------------------|
| <i>Открытые системы культивирования</i> | | |
| Круглые открытые с перемешивающим устройством | | 0,0085...0,0210 [254] |
| Открытые с системой каналов | <i>Chlorella sp</i> | 0,02400 ± 0,00013 [267] |
| | <i>Scenedesmus sp.</i> | 0,004...0,017 [268] |
| <i>Закрытые системы культивирования</i> | | |
| Плоскопанельные | <i>Scenedesmus obliquus</i> | 0,28...0,80 [269] |
| | <i>Chlorella Protothecoides</i> | 0,4...0,6 [270] |
| Цилиндрические | <i>Chlorella zofingiensis</i> | 0,067 [271] |
| | <i>Chlorococcales</i> | 0,234 [272] |
| | <i>Chlorella pyrenoidosa</i> | 0,11...0,63 [273] |

Продолжение табл. 5.1

| Тип | Вид продуцента | Продуктивность, г/(л·сут) |
|--|---|---------------------------|
| <i>Закрытые системы культивирования</i> | | |
| Трубчатые | <i>Scenedesmus Obliquus</i> | 0,022 [274] |
| | <i>Chlorella sorokiniana</i> | 0,6 [275] |
| Мембранные | <i>Chlorella sp. Chlorella vulgaris</i> | 0,055 [276] |
| Гибкие | <i>Chlamydomonas globosa, Chlorella minutissima</i> | 0,021 [277] |
| С использованием технологии иммобилизации клеток | <i>Scenedesmus obliquus, Chlorella vulgaris</i> | 0,110...0,401 [278] |

По результатам анализа литературных источников, описывающих особенности существующих систем культивирования можно сделать вывод, что для организации эффективной стратегии крупномасштабного культивирования биомассы микроводорослей и цианобактерий, в том числе в целях утилизации углекислого газа и получения продуктов из биомассы, помимо технических и конструктивных особенностей разных видов фотобиореакторов, необходимо учитывать такие факторы, как: морфологические, физиологические, биохимические особенности биологических фотоавтотрофных агентов, условия их культивирования, особенности накопления внутриклеточных целевых продуктов, географическое местоположение центра, где планируется организовать производство, чистота подаваемого углекислого газа.

Контрольные вопросы

1. Дайте определение термину «фотобиореактор». По каким признакам классифицируются фотобиореакторы?
2. Перечислите типы открытых систем культивирования фотоавтотрофных микроорганизмов. Опишите конструкцию и принцип действия круглого фотобиореактора.

3. Перечислите типы открытых систем культивирования фототрофных микроорганизмов. Опишите конструкцию и принцип действия открытого фотобиореактора с системой каналов.

4. Опишите конструкцию и принцип действия плоскопанельного фотобиореактора.

5. Опишите конструкцию и принцип действия барботажного фотобиореактора.

6. Опишите конструкцию и принцип действия эрлифтного фотобиореактора.

Глава 6

СТАДИИ ПОДГОТОВКИ И ПЕРЕРАБОТКИ БИОМАССЫ

6.1. КОНЦЕНТРИРОВАНИЕ КЛЕТОК БИОМАССЫ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ И ЦИАНОБАКТЕРИЙ

Суспензия клеток микроорганизмов, полученная в результате культивирования, содержит 0,05...0,50% (0,5...2,0 г/л) сухого вещества. Для повышения эффективности последующих стадий проводится её концентрирование до пасты с содержанием сухих веществ 15...35% [279]. При отделении биомассы необходимо учитывать маленький размер клеток (1...20 мкм), форму, строение клеточных стенок, а также свойства поверхности клеток (заряд, гидрофобность) [280]. Эти параметры будут сильно зависеть от условий культивирования и влиять на подбор оптимального способа концентрирования [281].

Методы концентрирования суспензии клеток фотоавтотрофов можно разделить на следующие группы:

- 1) флокуляция (солями металлов, полимерами, био- и автофлокуляция, электрокоагуляция);
- 2) гравитационные технологии (гравитационное осаждение, центрифугирование, флотация);
- 3) технологии на основе фильтрования (грохочение, мембранное фильтрование) [39].

Принцип флокуляции основан на нейтрализации поверхностного заряда клеток и их объединение в более крупные частицы – флокулы под действием сил Ван-дер-Ваальса. Для нейтрализации поверхностного заряда клеток микроорганизмов применяются: электрокоагуляция, соли цинка, алюминия и железа, полимерные флокулянты, биофлокулянты, изменение уровня pH культуральной жидкости [26, 282]. Метод перспективен как для самостоятельного применения, так и в сочетании с другими методами, в крупнотоннажных технологиях производства биотоплива, удобрений. К недостатку метода относится загрязнение биомассы флокулянтами.

Отстаивание – метод концентрирования биомассы, основанный на осаждении клеток под действием собственной силы тяжести. Концентрирование биомассы этим методом перспективный вариант, по-

сколькo он не требует затрат большого количества энергии. Однако осаждение под действием силы тяжести – относительно медленный процесс (скорость осаждения (10...20 мм/сут)) и требует контроля, меняющегося во времени содержания веществ в биомассе. Седиментация клеток под действием силы тяжести может быть использована в технологиях получения пищевых добавок, кормов для сельскохозяйственных животных, биотоплива, удобрений [280].

Центрифугирование – самый распространённый метод концентрирования биомассы микроорганизмов. Осаждение клеток происходит под действием центробежных сил [280]. Центрифугирование позволяет получить продукт с высоким содержанием сухого вещества (до 50%). Ключевыми достоинствами метода концентрирования клеток являются высокая эффективность (осаждение до 99% биомассы из суспензии) при факторе разделения 1000...1500 в течение 5...7 мин и чистота получаемой биомассы [282]. Недостатком центрифугирования является высокое потребление энергии, что сказывается на себестоимости целевого продукта.

Фильтрация относится к механическому процессу отделения клеток от культуральной жидкости путём установки сеток, фильтровальной ткани и проницаемых мембран, удерживающих твёрдые частицы. Основной движущей силой процесса является перепад давления через барьер, создаваемый за счёт вакуума, давления или силы тяжести [283].

При концентрировании с использованием мембран разделяют макрофильтрацию (размер пор >10 мкм), микрофильтрацию (0,1...10,0 мкм) и ультрафильтрацию (0,001...0,100 мкм). Макрофильтрация подходит для крупных клеток или флокулированной биомассы водорослей [283]. Для концентрирования биомассы клеток чаще используются микро- и ультрафильтрация. Этот метод концентрирования перспективен в технологиях производства чистых продуктов с высокой добавленной стоимостью.

Выбор метода концентрирования клеток или их комбинации будет зависеть от того, в каком производстве используется биомасса в качестве сырья (требования к целевому продукту, производительность). Разработка дешёвого и эффективного метода концентрирования клеток микроводорослей и цианобактерий для крупномасштабных биотехнологических производств позволит значительно повысить экономическую привлекательность использования микроводорослей для производства полезных для человека продуктов (табл. 6.1).

6.1. Области применения методов концентрирования

| Метод концентрирования | Биогорливо | Удобрения | Пищевые добавки | Корм | Фармацевтика | Источники |
|--|------------|-----------|-----------------|------|--------------|-----------------|
| Электрокоагуляция | + | + | | + | | [257, 279, 282] |
| Флокуляция с использованием солей металлов | + | + | | + | | |
| Автофлокуляция | + | + | | + | | |
| Флокуляция с использованием полимерных флокулянтов | + | + | | + | | |
| Биофлокуляция | + | + | | + | | |
| Осаждение под действием силы тяжести | + | + | + | + | | [257, 280] |
| Флотация | | | + | + | + | [11, 280, 284] |
| Центрифугирование | + | + | + | + | | [257, 280, 282] |
| Фильтрация | | | + | | + | [257, 283] |

6.2. ИЗВЛЕЧЕНИЕ ЦЕННЫХ ВЕЩЕСТВ ИЗ БИОМАССЫ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ И ЦИАНОБАКТЕРИЙ

Способы дезинтеграции и экстракции биомолекул из клеток микроводорослей и цианобактерий. Следующей за концентрированием биомассы энергозатратной стадией является экстракция/экстрагирование ценных компонентов из клеток. На её долю приходится до 40...60% от общей себестоимости конечного продукта [51]. Микроводоросли и цианобактерии подразделяются на виды без клеточной стенки, виды с целлюлозосодержащими клеточными стенками и виды с многослойными клеточными стенками (табл. 6.2).

6.2. Особенности строения клеточных стенок

| Микроводоросль | Размер, нм | Строение оболочек | Ссылка |
|------------------------|------------|--|--------|
| <i>Dunaliella</i> | – | Отсутствует жёсткая клеточная стенка, клетка окружена тонкой плазматической мембраной, состоящей из гликокаликсоподобного покрытия | [26] |
| <i>Haematococcus</i> | 30...35 | Алгаенан – фибриллярный слой (манноза и целлюлоза); третичный слой (манноза-целлюлоза); цитоплазматическая мембрана | [49] |
| <i>Chlorella</i> | 20...40 | Алгаенан – фибриллярный слой (манноза и хитиноподобный полисахарид); цитоплазматическая мембрана | [285] |
| <i>Chlamydomonas</i> | 80 | Микрофибриллярный слой без целлюлозы полностью состоящий из гликопротеинов, которые связаны со смесью гетероолигосахаридов, состоящей из арабинозы и галактозы | [50] |
| <i>Scenedesmus</i> | 40 | Пектиновый слой; алгаенан – фибриллярный слой; цитоплазматическая мембрана | [285] |
| <i>Spirulina</i> | 60 | Внешняя мембрана – фибриллярный слой; пептидогликановый слой; фибриллярный слой; цитоплазматическая мембрана | [285] |
| <i>Nannochloropsis</i> | 20...50 | Аморфный слизистый слой; алгаенан; целлюлозный слой; спорополленин; цитоплазматическая мембрана | [285] |

Для повышения эффективности экстракции/экстрагирования эндометаболитов из клеток микроводорослей и цианобактерий необходимо повысить степень гомогенности среды, тем самым увеличив поверхность взаимодействия «растворитель–целевое вещество», что достигается путём разрушения оболочек клеток и органелл. Наиболее часто для этого используют физические, химические и биохимические методы.

Физические методы. Паста клеток, содержащая после концентрирования 15...35% сухих веществ, может быть высушена до содержания сухих веществ 80...85% в естественных условиях, либо с применением распылительной или лиофильной сушки [286]. Обезвоживание биомассы приводит к появлению трещин в клеточной стенке или полному её разрыву, что облегчает дальнейшее извлечение целевых внутриклеточных продуктов, однако получение сухой биомассы требует значительных энергозатрат (до 85% от общего потребления энергии) [287]. Аналогичный эффект может быть достигнут путём организации процедуры замораживания/оттаивания клеток биомассы, которая приводит к образованию внутриклеточных кристалликов льда и разрыву клетки изнутри [52]. К преимуществам данного подхода можно отнести возможность извлечения термолабильных компонентов. Недостатком метода является высокое энергопотребление. Этот метод используется для разрушения клеток без клеточной стенки (*Dunaliella*) или при наличии фибриллярной (целлюлозной) клеточной стенки (*Chlamydomonas*, *Chlorella*, и *Spirulina*) для избирательного извлечения целевых биомолекул.

Методы, в основе которых лежит явление гидродинамической кавитации (высокоскоростная гомогенизация, гомогенизация под высоким давлением, ультразвуковая обработка), считаются высокоэффективными, легко масштабируемыми (кроме метода высокоскоростной гомогенизации). Эти методы применимы в технологиях производства биотоплива, удобрений, а также при целевом извлечении чистых веществ для получения косметических средств, пищевых добавок и фармацевтических препаратов.

Методы, в основе которых лежит процесс трения, – СВЧ-обработка, гомогенизация с применением мельющих тел. При СВЧ-обработке начинается вращение полярных молекул под действием переменного электромагнитного поля. В результате взаимного трения полярных молекул возникают локальные перегревы, в клетках образуется водяной пар, разрывающий клетки. Преимуществами метода можно считать короткое время обработки суспензий, возможность масштабируемости технологии, высокая эффективность дезинтеграции, невысокий

уровень потребления энергии [288]. При гомогенизации с применением мелющих тел дезинтеграция клеточных стенок осуществляется между шариками из стекла, керамики или стали при их перемешивании [289]. Такой способ дезинтеграции клеток считается высокоэффективным, но энергоёмким и его трудно масштабировать [74]. Этот метод подходит для дезинтеграции высококонцентрированных суспензий, которые легко разделяются или фракционируются после разрушения [290], и наиболее часто используется для разрушения клеток с прочными клеточными стенками, например *Nannochloropsis u Chlorella*.

Дезинтеграция импульсным электрическим полем подразумевает воздействие на суспензии клетки микроводорослей и цианобактерий электрических импульсов высокого напряжения в течение коротких периодов (микросекунд), что вызывает электропорацию фосфолипидного числа. Этот метод легко масштабируется и может быть использован в комбинации с другими методами, недостатком считается необходимость деионизации растворов [288]. Импульсное электрическое поле может быть применимо в качестве метода дезинтеграции при производстве биотоплива, удобрений, косметических средств, пищевых добавок и фармацевтических препаратов.

Химические методы. Для дезинтеграции клеток микроводорослей и цианобактерий могут быть применимы следующие вещества: растворители, кислоты, щёлочи, ацетон, метанол или диметилсульфоксид, смесь оксида железа (II, III) и пероксида водорода, хлорид натрия [77]. Большинство из этих соединений разрушают связи между мономерами клеточных стенок, вызывают денатурацию белков фосфолипидных мембран. К преимуществам этого метода можно отнести низкие затраты энергии и хорошую масштабируемость процесса [291]. Недостатком является потенциальная угроза деградации целевых компонентов [291]. Химические методы дезинтеграции перспективны при промышленном получении биотоплива (биоэтанола, биобутанола, биодизельного топлива), основ питательных сред, удобрений.

Биохимические методы. При создании биотехнологических производств, предполагающих одновременное получение нескольких ценных продуктов, необходимо целенаправленное разрушение клеточных стенок с минимальным воздействием на другие компоненты клеток. Данный подход может быть реализован с применением альгицидных микроорганизмов (цианобактерий, бактерий, вирусов и микроводорослей, которые разрушают клеточные стенки промышленных штаммов микроводорослей) или ферментативного гидролиза (протеазы, карбогидразы, липазы/фосфолипазы) [292]. Преимуществами биохимических методов является высокая селективность процесса, мягкие условия проведения процесса (комнатная температура, нейтральный уро-

вень рН) [293]. К недостаткам можно отнести необходимость тщательного отбора микроорганизмов (альгицидный лизис), высокую стоимость коммерческих ферментов, необходимость удаления или инактивации ферментов после дезинтеграции клеток микроводорослей [288]. Одним из главных подходов при поиске оптимальных способов подготовки биомассы для извлечения целевых компонентов является выбор последовательности комбинаций известных методов (табл. 6.3), обеспечивающих минимальную деградацию ценных веществ при оптимальных затратах энергии и времени.

6.3. Области применения методов дезинтеграции клеток микроводорослей и цианобактерий

| Метод дезинтеграции | Биотопливо | Удобрения | Пищевые добавки | Корм | Фармацевтика | Косметика | Источники |
|---|------------|-----------|-----------------|------|--------------|-----------|------------|
| Высокоскоростная гомогенизация, гомогенизация под высоким давлением, ультразвуковая обработка | + | + | + | + | + | | [288, 289] |
| СВЧ-обработка, гомогенизация с применением мелющих тел | | | + | | + | + | [288] |
| Дезинтеграция импульсным электрическим полем | + | + | + | | + | + | [288] |
| Ферментные препараты (карбогидразы, протеазы, липазы/ фосфолипазы) | | | + | | + | + | [77, 291] |

| Метод дезинтеграции | Биотопливо | Удобрения | Пищевые добавки | Корм | Фармацевтика | Косметика | Источники |
|--|------------|-----------|-----------------|------|--------------|-----------|-----------|
| Химические вещества (растворители различного типа, кислоты, щёлочи, ацетон, метанол или ДМСО (диметилсульфоксид), смесь оксида железа (II, III) и пероксида водорода, хлорид натрия (осмотический шок) | + | | | | | | [77, 291] |

Экстракция метаболитов из клеток микроводорослей и цианобактерий. В результате процесса разрушения клеток образуется гетерогенная система, состоящая из полярных и неполярных веществ, находящихся в твёрдой и жидкой фазах. При полном разрушении клеток и органелл целевые продукты окажутся в смеси межклеточной воды и растворителей. В этом случае эффективность экстракции будет зависеть от характеристик растворителей и условий реализации процесса.

Часть клеток после стадии дезинтеграции останутся живыми (5...20%) либо погибнут, но сохранят свою форму и клеточную оболочку (до 80%) [294]. В этом случае процесс экстракции будет дополнительно лимитироваться скоростью диффузии растворителей внутрь клетки и растворённых веществ наружу.

Как правило, температура экстракции будет варьироваться от 30 до 70 °С в зависимости от химических свойств используемых растворителей и целевых биомолекул, большинство из которых являются термолабильными. Для экстракции белков, витаминов группы А, В, С, РР и др., ростовых факторов, углеводов, липидов используются следующие полярные и неполярные растворители – вода, спирты (изопропанол, этанол или метанол и др.), ацетон, уксусная кислота, диметилсульфоксид, ионные жидкости, углеводороды, такие как гексан или

более эффективные, но токсичные растворители, такие как хлороформ [295]. Альтернативой химическим растворителям являются «зелёные» экстрагенты: терпены, CO₂ в до- и сверхкритическом состоянии [296]. Осуществить предварительный расчёт эффективности экстрагентов для извлечения эндометаболитов из клеток микроводорослей возможно с помощью методики Ч. Хансена [296]. Сложность применения этой методики заключается в том, что внутри клетки эндометаболиты присутствуют как в чистом виде, так и в составе сложных многокомпонентных соединений, что требует экспериментального определения характеристик смесей.

Важно также учитывать качество получаемого продукта, что существенно снижает спектр подходящих экстрагентов: при получении чистых продуктов с высокой добавленной стоимостью используются нетоксичные экологически чистые экстрагенты. При получении продуктов непищевого назначения, например липидов для биотоплива, возможно применение традиционных растворителей – смеси со-растворителей, например петролейного эфира или гексана, а также метанола или этанола.

Подход, основанный на совмещении стадий культивирования, разрушения и экстракции/экстрагирования в одной технологической системе (установке), может серьезно сократить капитальные и эксплуатационные затраты [297]. Однако такая система должна быть полностью автоматизирована, а настройки системы управления должны быть выполнены с использованием математических моделей реализуемых процессов.

Контрольные вопросы

1. Перечислите методы концентрирования суспензии клеток фотоавтотрофных микроорганизмов.
2. На чём основан принцип флокуляции при концентрировании клеток фотоавтотрофов?
3. От чего зависит выбор метода концентрирования клеток фотоавтотрофов?
4. Перечислите особенности строения клеточных стенок различных фотоавтотрофов.
5. Какие физические методы используются для дезинтеграции клеток фотоавтотрофов?
6. Какие химические методы используются для дезинтеграции клеток фотоавтотрофов?

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В последние годы во всём мире резко возрос интерес к технологиям получения ценных продуктов с использованием микроводорослей и цианобактерий. Их развитие предполагает создание природоподобных малоотходных производств, позволяющих сократить концентрацию парниковых газов промышленного производства, в частности углекислого газа, за счёт его усвоения фотоавтотрофными биологическими агентами (микроводорослями или цианобактериями) в процессе фотосинтеза. Биомасса микроводорослей и цианобактерий может быть использована для решения широкого круга задач хозяйственной деятельности человека (производства пищевых и кормовых добавок, компонентов для косметических продуктов, фармацевтических препаратов, биотоплива (биодизель, биоэтанол, биометан, авиатопливо, водород, синтез-газ), биопластика, биосмазков, биоудобрений, а также их использования для очистки сточных вод и регенерации воздуха).

Одним из подходов, который позволяет повысить эффективность усвоения и переработки углекислого газа фотоавтотрофными организмами, является генетическая трансформация, которая предполагает активизацию метаболических путей утилизации углекислого газа, введение дополнительных генов, кодирующих ферменты, наличие которых не характерно для природных штаммов. Внедрение таких генов позволяет получить целый спектр ценных продуктов: этанол, этилен, полимеры, n-алканы, изопреноиды, фармацевтические продукты или их промежуточные продукты.

Задача разработки оптимальных систем культивирования микроводорослей, ориентированных на крупномасштабное производство биомассы, может быть достигнута с помощью интеграции экспериментальных и вычислительных подходов. Прогностические модели являются подходящими инструментами для оценки и оптимизации биопроцессов, подверженных воздействию многочисленных факторов, ограничивающих рост микроводорослей. Выбор наиболее подходящей структуры модели будет зависеть от целей, для которых она предназначена, и поэтому следует учитывать баланс между прогностической способностью модели и её математической сложностью. Использование надёжных систем моделирования может помочь в определении оптимальных сценариев культивирования, что создаёт большие преимущества для создания технологий CO₂-утилизации и переработки продуктов на основе биотехнологии фотосинтетических микроорганизмов.

Перспективными для технологии биоутилизации углекислого газа являются конструкции фотобиореакторов закрытого типа, в которых будет обеспечена высокая степень соотношения площади освещаемой поверхности реактора к объёму и интенсивный массообмен между жидкой фазой (питательная среда и фотосинтетические автотрофные микроорганизмы) и газовой фазой, содержащей углекислый газ. В качестве источника освещения возможно применение солнечного света, а также искусственных источников, расположенных как снаружи, так и в потоке жидкой фазы (светодиодные системы освещения, лампы дневного света и пр.).

Выбор метода концентрирования клеток микроводорослей и цианобактерий или их комбинации будет зависеть от того, в каком производстве используется биомасса в качестве сырья (требования к целевому продукту, производительность). Разработка дешёвого и эффективного метода концентрирования клеток микроводорослей для крупномасштабных биотехнологических производств позволит значительно повысить экономическую привлекательность использования микроводорослей для производства полезных для человека продуктов. Одним из главных подходов при поиске оптимальных способов подготовки биомассы для извлечения целевых компонентов является выбор последовательности комбинаций известных методов (физические, химические или биохимические методы дезинтеграции), обеспечивающих максимальную эффективность при минимальной деградации ценных веществ. Выбор и соотношение экстрагентов существенно влияют на качество получаемого продукта: при получении чистых продуктов с высокой добавленной стоимостью используются нетоксичные экологически чистые экстрагенты. При получении продуктов непитевого назначения, например липидов для биотоплива, возможно применение традиционных растворителей – смеси растворителей, например петролейного эфира или гексана, а также метанола или этанола.

Перспективен подход, основанный на совмещении стадий культивирования, разрушения и экстракции в одной технологической системе (установке), может серьёзно сократить капитальные и эксплуатационные затраты.

Многие фирмы и исследовательские организации во многих странах (в частности, США, Китае, Германии, Италии, Японии, Канаде, Нидерландах) ведут активные работы в области разработки подходов утилизации углекислого газа с применением фотоавтотрофных биологических агентов. Основными техническими результатами рассмотренных изобретений являются генетическая модификация биологических агентов, разработка и повышение эффективности фотобиореакторов,

повышение эффективности процесса извлечения целевых компонентов за счёт правильного сочетания методов концентрирования, дезинтеграции и условий экстракции для одновременного получения нескольких ценных компонентов из биомассы микроводорослей.

Развитие многоассортиментных биотехнологических производств с использованием фотосинтетических микроорганизмов, внедрение энерго- и ресурсосберегающих процессов, увеличение мощностей единичных аппаратов, повышение требований к качеству продукции ставят задачи поиска путей интенсификации технологических процессов, создания качественно новых систем управления, позволяющих поддерживать оптимальные режимы работы при любых возможных производственных ситуациях.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Евтеев, С. А. Наше общее будущее / С. А. Евтеев, Р. А. Перелет ; пер. с англ. // Докл. Междунар. комис. по окружающей среде и развитию (МКОСР). – М. : Прогресс, 1989. – 371 с.
2. Optimising Microalgal Cultivation for Biofuels Production: the Biorefinery Paradigm / M. Bekirogullari, et al. // *Biotechnology Advances*. – 2020. – V. 44.
3. Alam, M. A. Microalgae Biotechnology for Food, Health and High Value Products / M. A. Alam, J. L. Xu, Z. Wang // Springer Singapore. – 2020. – 483 p.
4. Chisti, Y. Constraints to Commercialization of Algal Fuels / Y. Chisti // *J. Biotechnol.* – 2013. – V. 167(3). – P. 201 – 214.
5. Цоглин, Л. Н. Биотехнология микроводорослей / Л. Н. Цоглин, Н. А. Пронина. – М. : Научный мир, 2012. – 184 с.
6. Bwarwa, J. K. Sustainable Approach for Bioenergy and Biofuel Production from Microalgae / J. K. Bwarwa, T. Mutanda, A. A. Anandraj // *Sustainable Downstream Processing of Microalgae for Industrial Application*. – 2019. – P. 137 – 163.
7. Benemann, J. R. Hydrogen Production by Microalgae / J. R. Benemann // *J. Appl. Phycol.* – 2000. – P. 291 – 300.
8. Synthesis Gas Production from Microalgae Gasification in the Presence of Fe₂O₃ Oxygen Carrier and CaO Additive / G. Liu, et al. // *Applied Energy*. – 2018. – V. 212. – P. 955 – 965.
9. Current Bottlenecks and Challenges of the Microalgal Biorefinery / I. Gifuni, et al. // *Trends in Biotechnol.* – 2019. – V. 37(3).
10. Assessment of the Biotechnological Potential of Cyanobacterial and Microalgal Strains from IPPAS Culture Collection / M. A. Sinetova, et al. // *Biotechnologiya*. – 2020. – V. 56(7). – P. 12 – 29.
11. Microalgae with Artificial Intelligence: A Digitalized Perspective on Genetics, Systems and Products / S. Y. Teng, et al. // *Biotechnology Advances*. – 2020. – V. 44(10). – P. 107631.
12. Emissions Gap Report 2019 [Электронный ресурс] // UN Environment Programme. – URL : <https://www.unep.org/resources/emissions-gap-report-2019> (дата обращения: 11.11.2021).
13. Zilliges, Y. Glycogen, a Dynamic Cellular Sink and Reservoir for Carbon / Y. Zilliges // *Cell Biology of Cyanobacteria*. – Seville: Caister Academic Press. – 2014. – 308 p.
14. Señoráns, M. Advanced Extraction of Lipids with DHA from *Isochrysis Galbana* with Enzymatic Pre-Treatment Combined with Pressur-

ized Liquids and Ultrasound Assisted Extractions / M. Señoráns, N. Castejón, F. J. Señoráns // *Molecules*. – 2020. – V. 25(14).

15. Market Watch. Beta carotene market size, share 2019. Global Beta Carotene Market Report, 2019.

16. Predicting Dynamic Metabolic Demands in the Photosynthetic Eukaryote *Chlorella vulgaris* / C. Zuciga, et al. // *Plant Physiol.* – 2017. – V. 176. – P. 450 – 462.

17. Boyle, N. R. Metabolic Flux Analysis of Heterotrophic Growth in *Chlamydomonas Reinhardtii* / N. R. Boyle, N. Sengupta, J. A. Morgan // *PLoS ONE*. – 2017. – V. 12.

18. Microalgae Metabolites: A Rich Source for Food and Medicine / R. Sathasivam, R. Radhakrishnan, A. Hashem, F. Elsayed, E. F. Allah // *Saudi Journal of Biological Sciences*. – 2019. – V. 26. – P. 709.

19. Microalgae as Bio-fertilizers for Rice Growth and Seed Yield Productivity / R. Dineshkumar, R. A. Ahamed, A. Arumugam, N. K. S. Nathiga, P. Sampathkumar // *Waste Biomass Valor.* – 2018. – V. 9(5). – P. 793.

20. Producing Omega-3 Polyunsaturated Fatty Acids: A Review of Sustainable Sources and Future Trends for the EPA and DHA Market / L. Oliver, T. Dietrich, I. Marañón, M. C. Villarán, R. J. Barrio // *Resources*. – 2020. – V. 9. – P. 148.

21. Rastogi, R. P. Algal green chemistry – Recent progress in Biotechnology / R. P. Rastogi, M. Datta, A. Pandey. – Amsterdam : Elsevier, 2017.

22. Bwapwa, J. K. Possibilities for Conversion of Microalgae Oil into Aviation Fuel: A Review / J. K. Bwapwa, A. Anandraj, C. Trois // *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. – 2017. – V. 80. – P. 1345.

23. Antibacterial Free Fatty Acids and Monoglycerides: Biological Activities, Experimental Testing, and Therapeutic Applications / B. K. Yoon, J. A. Jackman, E. R. Valle-González, N.-J. Cho // *Int. J. Mol. Sci.* – 2018. – V. 19.

24. McWilliams, A. The Global Market for Carotenoids. FOD025F. 2018. BCC research report overview. Wellesley, MA: BCC Publishing.

25. Bioplastic Production from Microalgae: a Review / S. O. Cinar, Z. K. Chong, M. A. Kucuker, N. Wiczorek, U. Cengiz, K. Kuchta // *Int. J. Environ. Res. Public Health*. – 2020. – V. 17.

26. Dixon, C. Green Microalgae Biomolecule Separations and Recovery / C. Dixon, L. R. Wilken // *Bioresour. Bioprocess.* – 2018. – V. 5.

27. Microalgal Biostimulants and Biofertilisers in Crop Productions / D. Ronga, E. Biazzi, K. Parati, D. Carminati, E. Carminati, A. Tava // *Agronomy*. – 2019. – V. 9. – P. 192.

28. Improvement of the Extraction Process for High Commercial Value Pigments from *Desmodesmus* sp. Microalgae / A. T. Soares, Júnior J. G. Marques, R. G. Lopes, R. B. Derner, Filho N. R. Antoniosi // *Journal of the Brazilian Chemical Society*. – 2016. – V. 27. – P. 1083.
29. *Chlorella* and *Spirulina* Microalgae as Sources of Functional Foods, Nutraceuticals, and Food Supplements; an Overview / L. M. Andrade, C. J. Andrade, M. Dias, Claudio A. O. Nascimento, M. A. Mendes // *MOJ Food Process Technol.* – 2018. – V. 6. – P. 45.
30. Experimental Research into the Antibiotic Properties of *Chlorella Vulgaris* Algal Exometabolites / D. Dvoretzky, S. Dvoretzky, M. Temnov, I. Markin, E. Akulinin, O. Golubyatnikov, Y. Ustinskaya, M. Eskova // *Chemical Engineering Transactions*. – 2019. – V. 74. – P. 1429.
31. Effects of the Heating Source on the Regeneration Performance of Different Adsorbents Under Post-Combustion Carbon Capture Cyclic Operations. A Comparative Analysis / M. M. Yassin, et al. // *Separation and Purification Technology*. – 2021. – V. 276. – P. 119326.
32. Nutritional Evaluation of Microalgae Oils Rich in Omega-3 Long Chain Polyunsaturated Fatty Acids as an Alternative for Fish Oil / E. Ryckebosch, C. Bruneel, R. Termote-Verhalle, K. Goiris, K. Muylaert, I. Foubert // *Food Chem.* – 2014. – V. 160. – P. 393 – 400.
33. Towards the Industrial Production of Omega-3 Long Chain Polyunsaturated Fatty Acids from a Genetically Modified Diatom *Phaeodactylum Tricornutum* / M. L. Hamilton, J. Warwick, A. Terry, M. J. Allen, J. A. Napier, O. Sayanova // *PLoS ONE*. – 2015. – V. 14.
34. What is in Store for EPS Microalgae in the Next Decade? / G. Pierre, C. Delattre, P. Dubessay, S. Jubeau, C. Vialleix, I. Probert, P. Michaud // *Molecules*. – 2019. – V. 24. – P. 4296.
35. Nutritionally Important Carotenoids as Consumer Products / J. Berman, U. Zorrilla-López, G. Farré, C. Zhu, G. Sandmann, R. Twyman, T. Capell, P. Christou // *Phytochemistry Reviews*. – 2014. – V. 14. – P. 727.
36. Assessment of Stress Conditions for Carotenoids Accumulation in *Chlamydomonas Reinhardtii* as Added-Value Algal Products / S. A. El-Mekki, H. S. Hussein, El-Enin S. A. Abo, N. N. El-Ibiari // *Bulletin of the National Research Centre*. – 2019. – V. 43.
37. Health Benefits and Production Methods of Natural Astaxanthin // BGG. – URL : <http://bggworld.com> (дата обращения: 11.11.2021).
38. Industrial Potential of Carotenoid Pigments from Microalgae: Current Trends and Future Prospects / R. R. Ambati, D. Gogisetty, R. G. Aswathanarayana, S. Ravi, P. N. Bikkina, L. Bo. Su. Yuepeng // *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*. – 2018. – P. 1 – 22.

39. De Jesús Paniagua-Michel J., Morales-Guerrero E., Soto J. O. *Microalgal biotechnology: Biofuels and bioproducts*. – Berlin : Springer-Verlag, 2015.
40. Mills, L. A. Current Knowledge and Recent Advances in Understanding Metabolism of the Model Cyanobacterium *Synechocystis* sp. PCC 6803 / L. A. Mills, A. J. McCormick, D. J. Lea-Smith // *Biosci Rep*. – 2020. – V. 40(4). – URL : <https://doi.org/10.1042/BSR20193325>
41. Hydrogenases and Hydrogen Metabolism of Cyanobacteria / P. Tamagnini, et al. // *Microbiol Mol Biol Rev*. – 2002. – V. 66(1). – P. 1 – 20.
42. Recent Advances in the Photoautotrophic Metabolism of Cyanobacteria: Biotechnological Implications / T. Veaudoret, et al. // *Life*. – 2020. – V. 10(5). – P. 71. – URL : <https://doi.org/10.3390/life10050071>
43. Gademann, K. Secondary Metabolites from Cyanobacteria: Complex Structures and Powerful Bioactivities / K. Gademann, C. Portmann // *Curr. Org. Chem*. – 2008. – V. 12. – P. 326 – 341.
44. Dittmann, E. Molecular Biology of Peptide and Polyketide Biosynthesis in Cyanobacteria / E. Dittmann, B. A. Neilan, T. Borner // *Appl. Microbiol. Biotechnol*. – 2001. – V. 57. – P. 467 – 473.
45. Tan, L. Bioactive Natural Products from Marine Cyanobacteria for Drug Discovery / L. Tan // *Phytochemistry*. – 2007. – V. 68. – P. 954 – 979.
46. Whitton, B. A. Introduction to the Cyanobacteria / B. A. Whitton, M. Potts // *Ecology of Cyanobacteria*. – 2012. – P. 1 – 13.
47. Tiny Microbes with a Big Impact: The Role of Cyanobacteria and Their Metabolites in Shaping our Future / S. Mazard, A. Penesyan, M. Ostrowski, I. Paulsen, S. Egan // *Mar. Drugs*. – 2016. – V. 14. – P. 97.
48. Models of Microalgal Cultivation for Added-Value Products – A Review / M. Bekirogullari, et al. // *Biotechnology Advances*. – 2020. – V. 44(3). – P. 107609.
49. Cell Disruption and Lipid Extraction for Microalgal Biorefineries: A Review. / S. Lee, et al. // *Bioresource Technology*. – 2017. – V. 244(2).
50. Cell Wall Integrity Signaling Regulates Cell Wall-Related Gene Expression in *Chlamydomonas Reinhardtii* / Cronmiller E., et al. // *BioRxiv*. – 2019. – V. 9(1). – P. 30.
51. Molina-Grima, E. Recovery of Microalgal Biomass and Metabolites: Process Options and Economics / E. Molina-Grima, E. Belarbi, G. Acien // *Biotechnology advances*. – 2003. – V. 20. – P. 491 – 515.
52. Lee, A. K. Disruption of Microalgal Cells for the Extraction of Lipids for Biofuels: Processes and Specific Energy Requirements / A. K. Lee, D. M. Lewis, P. J. Ashman // *Bio. Bioenergy*. – 2012. – V. 46. – P. 89 – 101.

53. Tibbetts, S. M. Chemical Composition and Nutritional Properties of Freshwater and Marine Microalgal Biomass Cultured in Photobioreactors / S. M. Tibbetts, J. E. Milley, S. P. Lall // *Journal of Applied Phycology*. – 2015. – V. 27. – P. 1109 – 1119.
54. Chemical Characterization of Six Microalgae with Potential Utility for Food Application / Â. P. Matos, et al. // *Journal of the American Oil Chemists Society*. – 2016. – V. 93. – P. 963 – 972.
55. Muhaemin, M. Biomass Nutrient Profiles of Marine Microalgae *Dunaliella Salina* / M. Muhaemin, R. F. Kaswadji // *Journal Penelitian Sains*. – 2009. – V. 13. – P. 64 – 67.
56. Astaxanthin-Producing Green Microalga *Haematococcus Pluvialis*: From Single Cell to High Value Commercial Products / M. R. Shah, et al. // *Frontiers in Plant Science*. – 2016. – V. 7(278).
57. Morphological, Molecular, and Biochemical Characterization of Astaxanthin-Producing Green Microalga *Haematococcus* sp. KORDI03 (*Haematococcaceae*, *Chlorophyta*) Isolated from Korea / J. H. Kim, et al. // *Journal of Microbiology and Biotechnology*. – 2015. – V. 25(2). – P. 238 – 246.
58. Influence of Culture Conditions on the Productivity and Lutein Content of the New Strain *Scenedesmus Almeriensis* / J. F. Sánchez, et al. // *Process Biochemistry*. – 2008. – V. 43. – P. 398 – 405.
59. Borowitzka, M. A. High-Value Products from Microalgae their Development and Commercialization / M. A. Borowitzka // *Journal of Applied Phycology*. – 2013. – V. 25. – P. 743 – 756.
60. A Strain Selection Guide for Microalgae Users: Cultivation and Chemical Characteristics for High Added-Value Products [Электронный ресурс] // *Microalgae strain catalogue*. – URL : <https://www.enhancemicroalgae.eu/wp-content/uploads/2019/09/EMA-Strain-Catalogue.pdf> (дата обращения: 11.11.2021).
61. Photosynthetic Production of Ethanol from Carbon Dioxide in Genetically Engineered Cyanobacteria / Z. Gao, et al. // *Energy Environ. Sci.* – 2012. – V. 5. – P. 9857 – 9865.
62. Improved Production of Fatty Alcohols in Cyanobacteria by Metabolic Engineering / L. Yao, et al. // *Biotechnol. Biofuels*. – 2014. – V. 7. – P. 94.
63. Sustained Photosynthetic Conversion of CO₂ to Ethylene in Recombinant Cyanobacterium *Synechocystis* 6803 / J. Ungerer, et al. // *Energy Environ. Sci.* – 2012. – V. 5. – P. 8998 – 9006.
64. Designing and Creating a Modularized Synthetic Path way in Cyanobacterium *Synechocystis* Enables Production of Acetone from Carbon Dioxide / J. Zhou, et al. // *Metab. Eng.* – 2012. – V. 14. – P. 394 – 400.

65. Fatty Acid Production in Genetically Modified Cyanobacteria / X. Liu, J. Sheng, R. Curtiss // Proc. Natl. Acad. Sci. – 2011. – V. 108. – P. 6899 – 6904.

66. Current Bottlenecks and Challenges of the Microalgal Biorefinery / I. Gifuni, et al. // Trends in Biotechnol. – 2019. – V. 37. – P. 242.

67. Comprehensive Utilization of Marine Microalgae for Enhanced Co-Production of Multiple Compounds / M. Ruijuan, et al. // Mar. Drugs. – 2020. – V. 18(9). – 467 p.

68. *Chlorella Vulgaris*, a Microalgae Important to be used in Biotechnology: A Review / J. A. Coronado-Reyes, et al. // Food Science and Technology. – 2020.

69. Research into the Influence of Cultivation Conditions on the Fatty Acid Composition of Lipids of *Chlorella Vulgaris* Microalgae / D. Dvoretzky, et al. // Chemical Engineering Transactions. – 2020. – V. 79. – P. 31 – 36.

70. A Review on the Assessment of Stress Conditions for Simultaneous Production of Microalgal Lipids and Carotenoids / A. K. Minhas, et al. // Front Microbiol. – 2016. – V. 7.

71. Ciebiada, M. Modifying the Cyanobacterial Metabolism as a Key to Efficient Biopolymer Production in Photosynthetic Microorganisms / M. Ciebiada, K. Kubiak, M. Daroch // Int. J. Mol. Sci. – 2020. – V. 21(19). – P. 7204.

72. Cyanobacterial Farming for Environment Friendly Sustainable Agriculture Practices: Innovations and Perspectives / J. Pathak, et al. // Front. Environ. Sci. – 2018. – V. 28.

73. Zilliges, Y. Glycogen, a Dynamic Cellular Sink and Reservoir for Carbon / Y. Zilliges // Cell Biology of Cyanobacteria. – Seville : Caister Academic Press. – 2014. – 308 p.

74. Lipid Recovery from Wet Oleaginous Microbial Biomass for Biofuel Production: A Critical Review / T. Dong, et al. // Appl. Energy. – 2016. – V. 177. – P. 879.

75. Engineering Limonene and Bisabolene Production in Wild Type and a Glycogen-Deficient Mutant of *Synechococcus* sp. PCC 7002 / F. K. Davies, V. H. Work, A. S. Beliaev, M. C. Posewitz // Front. Bioeng. Biotechnol. – 2014. – V. 2.

76. Ruffing, A. M. Improved Free Fatty Acid Production in Cyanobacteria with *Synechococcus* sp. PCC 7002 as Host / A. M. Ruffing // Front. Bioeng. Biotechnol. – 2014. – V. 2.

77. Fatty Acids from High Rate Algal Pond's Microalgal Biomass and Osmotic Stress Effects / N. Drira, N. Dhouibi, S. Hammami, A. Piras,

A. Rosa, S. Porcedda, H. Dhaouadi // *Bioresour. Technol.* – 2017. – V. 244. – P. 860 – 864.

78. Koller, M. Microalgae as Versatile Cellular Factories for Valued Products / M. Koller, A. Muhr, G. Braunegg // *Algal Research.* – 2014. – V. 6. – P. 52 – 63.

79. Characterization of *Chlorella Sorokiniana*, UTEX1230 / A. M. Lizzu, A. Lekuona-Amundarain, S. Purton, Campos L. Cintra // *Biology.* – 2018. – V. 7.

80. Семеновко, В. Е. К вопросу о выращивании культуры *Chlorella rupeoidosa* в условиях освещения импульсным светом / В. Е. Семеновко, М. Г. Владимирова, М. А. Попова // *Физиология растений.* – 1960. – Т. 7, вып. 4. – С. 459 – 465.

81. Provision of Carbon Skeleton for Lipid Synthesis from the Breakdown of Intracellular Protein and Soluble Sugar in *Phaeodactylum Tricornutum* under High CO₂ / A. Huang, S. Wu, W. Gu, Y. Li, X. Xie, G. Wang // *BMC Biotechnol.* – 2019. – V. 19.

82. Nguyen, M. A. A Review on Microalgae and Cyanobacteria in Biofuel Production / M. A. Nguyen, A. L. Hoang // *Economics and Finance.* – 2016. – URL : <https://hal-enpc.archives-ouvertes.fr/hal-01383026/document>

83. Señoráns, M. Advanced Extraction of Lipids with DHA from *Isochrysis Galbana* with Enzymatic Pre-Treatment Combined with Pressurized Liquids and Ultrasound Assisted Extractions / M. Señoráns, N. Castejón, F. J. Señoráns // *Molecules.* – 2020. – V. 25(14).

84. Market Watch. Beta carotene market size, share 2019. Global Beta Carotene Market Report, 2019.

85. The Role of Microalgae in the Bioeconomy / F. G. A. Fernandez, A. Reis, R. H. Wijffels, M. Barbosa, V. Verdelho, B. Llamas // *New Biotechnology.* – 2020. – URL : <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2020.11.011>

86. Effect of Dissolved Oxygen Concentration on Microalgal Culture in Photobioreactors / A. Kazbar, G. Cogne, B. Urbain, H. Marec, B. Le-Gouic, J. Tallec, H. Takache, A. Ismail, J. Pruvost // *Algal Research.* – 2019. – V. 39. – URL : <https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101432>

87. Overview of the Potential of Microalgae for CO₂ Sequestration / V. Bhola, F. Swalaha, Kumar R. Ranjith, M. Singh, F. Bux // *Int. J. Environ. Sci. Technol.* – 2014. – V. 11. – P. 2103 – 2118.

88. CO₂ Capture using Microalgae / M. A. Vale, A. Ferreira, J. C. M. Pires, A. L. Goncalves // *Advances in Carbon Capture.* – 2020. – P. 381 – 405.

89. Nutrient Limitation as a Strategy for Increasing Starch Accumulation in Microalgae / G. Dragone, et al. // *Appl. Energy* – 2011. – V. 88(10). – P. 3331 – 3335.

90. Klausmeier, C. A. Phytoplankton Growth and Stoichiometry under Multiple Nutrient Limitation / C. A. Klausmeier, E. Litchman, S. A. Levin // *Limnol. and Oceanogr.* – 2004. – V. 49. – P. 1463 – 1470.
91. Multiple Product Inhibition and Growth Modeling of *Clostridium Butyricum* and *Klebsiella Pneumoniae* in Glycerol Fermentation / A. P. Zeng, et al. // *Biotechnol. Bioeng.* – 1994. – V. 44(8). – P. 902 – 911.
92. Kinetic Modelling of Heterotrophic Microalgae Culture in Wastewater: Storage Molecule Generation and Pollutants Mitigation / T. Murwanashyaka, et al. // *Biochem. Eng. J.* – 2020. – V. 157. – P. 9.
93. Brennan, L. Biofuels from Microalgae – a Review of Technologies for Production, Processing, and Extractions of Biofuels and Co-Products / L. Brennan, P. Owende // *Renew. Sust. Energ. Rev.* – 2010. – V. 14. – P. 557 – 577.
94. Theodoropoulos, C. Bioreactor Models and Modeling Approaches / C. Theodoropoulos, C. Sun. – Elsevier, 2019. – P. 680.
95. Muñoz-Tamayo, R. Optimizing Microalgal Production in Raceway Systems / R. Muñoz-Tamayo, F. Mairet, O. Bernard // *Biotechnol. Prog.* – 2013 – V. 29(2). – P. 543 – 552.
96. Biokinetic Model-Based Multi-Objective Optimization of *Dunaliella Tertiolecta* Cultivation using Elitist Nondominated Sorting Genetic Algorithm with Inheritance // S. K. Sinha, et al. // *Bioresour. Technol.* – 2017. – V. 242. – P. 206 – 217.
97. Model-Based Optimization of Microalgae Areal Productivity in FLat-Plate Gas-Lift Photobioreactors / C. E. Pfaffinger, et al. // *Algal Res.* – 2016. – V. 20. – P. 53 – 163.
98. He, L. Experimental Analysis and Model-Based Optimization of Microalgae Growth in Photo-Bioreactors using Flue Gas / L. He, V. R. Subramanian, Y. J. Tang // *Biomass Bioenergy.* – 2012. – V. 41. – P. 131 – 138.
99. Ryu, K. H. A Model-Based Optimization of Microalgal Cultivation Strategies for Lipid Production under Photoautotrophic Condition / K. H. Ryu, B. Kim, J. H. Lee // *Comput. Chem. Eng.* – 2019. – V. 121. – P. 57 – 66.
100. Bekirogullari, M. Multi-Factor Kinetic Modelling of Microalgal Biomass Cultivation for Optimised Lipid Production / M. Bekirogullari, J. K. Pittman, C. Theodoropoulos // *Bioresour. Technol.* – 2018. – V. 269. – P. 417 – 425.
101. A New Bioenergetic and Thermodynamic Approach to Batch Photoautotrophic Growth of *Arthrospira (Spirulina) Platensis* in Different Photobioreactors and under Different Light Conditions / M. F. Da Silva, et al. // *Bioresour. Technol.* – 2016. – V. 207. – P. 220 – 228.

102. Shuler, M. L. *Bioprocess Engineering: Basic Concepts* / M. L. Shuler, F. Kargi. – New Jersey : Prentice Hall, 1992. – 479 p.
103. Monod, J. The growth of bacterial cultures / J. Monod // *Annu. Rev. Microbiol.* – 1949. – V. 3. – P. 371 – 394.
104. Droop, M. R. Vitamin B₁₂ and Marine Ecology. IV. The Kinetics of Uptake, Growth and Inhibition in *Monochrysis Lutheri* / M. R. Droop // *J. Mar. Biol. Assoc. U. K.* – 1968. – V. 48. – P. 689 – 733.
105. On-line Estimation of O₂ Production, CO₂ Uptake, and Growth Kinetics of Microalgal Cultures in a Gas-Tight Photobioreactor / N. T. Erikson, et al. // *J. Appl. Phycol.* – 2006. – V. 19. – P. 161 – 174.
106. Effects of different Nitrogen and Phosphorus Concentrations on the Growth, Nutrient Uptake, and Lipid Accumulation of a Freshwater Microalga *Scenedesmus* sp. / L. Xin, et al. // *Bioresour. Technol.* – 2010. – V. 101. – P. 5494 – 5500.
107. Chen, F. Substrate Inhibition of *Chlamydomonas Reinhardtii* by Acetate in Heterotrophic Culture / F. Chen, M. R. Johns // *Process Biochem.* – 1994. – V. 29. – P. 245 – 252.
108. Pérez, E. B. Kinetic Model for Growth of *Phaeodactylum Tricornutum* in Intensive Culture Photobioreactor / E. B. Pérez, I. C. Pina, L. P. Rodríguez // *Biochem. Eng. J.* – 2008. – V. 40. – P. 520 – 525.
109. Flynn, K. J. Modelling Multi-Nutrient Interactions in Phytoplankton; Balancing Simplicity and Realism // K. J. Flynn // *Prog. Oceanogr.* – 2003. – V. 56. – P. 249 – 279.
110. Andrews, J. F. A Mathematical Model for the Continuous Culture of Microorganisms Utilizing Inhibitory Substrates // J. F. Andrews // *Biotechnol. Bioeng.* – 1968. – V. 10. – P. 707 – 723.
111. Martínez Sancho, M. E. Influence of Phosphorus Concentration on the Growth Kinetics and Stoichiometry of the Microalga *Scenedesmus Obliquus* / M. E. Martínez Sancho, J. M. Jiménez Castillo, F. El. Yousfi // *Process Biochem.* – 1997. – V. 32. – P. 657 – 664.
112. Mayo, A. W. Effects of Temperature and pH on the Kinetic Growth of *Unialga Chlorella Vulgaris* Cultures Containing Bacteria / A. W. Mayo // *Water Environ. Res.* – 1997. – V. 69. – P. 64 – 72.
113. Kinetic Modeling of Light Limitation and Sulfur Deprivation Effects in the Induction of Hydrogen Production with *Chlamydomonas Reinhardtii*. Part I. Model Development and Parameter Identification / S. Fouchard, et al. // *Biotechnol. Bioeng.* – 2009. – V. 102. – P. 232 – 245.
114. Kinetic Modelling of Growth and Storage Molecule Production in Microalgae under Mixotrophic and Autotrophic Conditions / V. O. Adesanya // *Bioresour. Technol.* – 2014. – V. 157. – P. 293 – 304.

115. Bougaran, G. Modeling Continuous Cultures of Microalgae Colimited by Nitrogen and Phosphorus / G. Bougaran, O. Bernard, A. Sciandra // *J. Theor. Biol.* – 2010. – V. 265. – P. 443 – 454.
116. Modelling Neutral Lipid Production by the Microalga *Isochrysis* aff. *Galbana* under Nitrogen Limitation / F. Mairet, et al. // *Bioresour. Technol.* – 2011. – V. 102. – P. 142 – 149.
117. Growth and Neutral Lipid Synthesis in Green Microalgae: A Mathematical Model / A. Packer, et al. // *Bioresour. Technol.* – 2011. – V. 102. – P. 111 – 117.
118. Lee, E. Growth Kinetic Models for Microalgae Cultivation: A Review / E. Lee, M. Jalalizadeh, Q. Zhang // *Algal Res.* – 2015. – V. 12. – P. 497 – 512.
119. Cherif, M. Towards a More Biologically Realistic use of Droop's Equations to Model Growth under Multiple Nutrient Limitation / M. Cherif, M. Loreau // *Oikos.* – 2010. – V. 119. – P. 897 – 907.
120. Lange, K. The Attractiveness of the Droop Equations / K. Lange, F. J. Oyarzun // *Math. Biosci.* – 1992. – V. 111. – P. 261 – 278.
121. Davidson, K. An Investigation of Non-Steady-State Algal Growth. II. Mathematical Modelling of Co-Nutrient-Limited Algal Growth / K. Davidson, W. S. C. Gurney // *J. Plankton Res.* – 1999. – V. 21. – P. 839 – 858.
122. Caperon, J. Nitrogen-Limited Growth of Marine Phytoplankton. II. Uptake Kinetics and their Role in Nutrient Limited Growth of Phytoplankton / J. Caperon, J. Meyer // *Deep-Sea Res. Oceanogr. Abstr.* – 1972. – V. 19. – P. 619 – 632.
123. Droop, M. R. Years of Algal Growth Kinetics A Personal View / M. R. Droop // *Botanica Marina.* – 1983. – V. 26. – P. 99 – 112.
124. Martínez, M. E. Influence of Phosphorus Concentration and Temperature on Growth and Phosphorus Uptake by the Microalga *Scenedesmus Obliquus* / M. E. Martínez, J. M. Jiménez, F. El. Yousfi // *Bioresour. Technol.* – 1999. – V. 67. – P. 233 – 240.
125. Geider, R. J. A Dynamic Regulatory Model of Phytoplanktonic Acclimation to Light, Nutrients, and Temperature / R. J. Geider, H. L. MacIntyre, T. M. Kana // *Limnol. Oceanogr.* – 1998. – V. 43. – P. 679 – 694.
126. Geider, R. J. Dynamic Model of Phytoplankton Growth and Acclimation: Responses of the Balanced Growth Rate and the Chlorophyll a Carbon Ratio to Light, Nutrient-Limitation and Temperature / R. J. Geider, H. L. MacIntyre, T. M. Kana // *Mar. Ecol. Prog. Ser.* – 1997. – V. 148. – P. 187 – 200.
127. Dynamic Modeling of Microalgae Growth and Lipid Production under Transient Light and Nitrogen Conditions / D. Wang, et al. // *Environ. Sci. Technol.* – 2019. – V. 53. – P. 1560 – 1568.

128. Dynamic Coupling of Photoacclimation and Photoinhibition in a Model of Microalgae Growth / A. Nikolaou, et al. // *J. Theor. Biol.* – 2016. – V. 390. – P. 61 – 72.

129. A Mathematical Model of Microalgal Growth in Light-Limited Chemostat Culture / E. M. Grima, et al. // *J. Chem. Technol. Biotechnol.* – 1994. – V. 61. – P. 167 – 173.

130. Barbosa, M. J. Optimisation of Cultivation Parameters in Photobioreactors for Microalgae Cultivation using the A-Stat Technique / M. J. Barbosa, J. Hoogakker, R. H. Wijffels // *Biomol. Eng.* – 2003. – V. 20. – P. 115 – 123.

131. Béchet, Q. Modeling the Effects of Light and Temperature on Algae Growth: State of the Art and Critical Assessment for Productivity Prediction During Outdoor Cultivation / Q. Béchet, A. Shilton, B. Guieysse // *Biotechnol. Adv.* – 2013. – V. 31. – P. 1648 – 1663.

132. Crill, P. A. The Photosynthesis-Light Curve: A Simple Analog Model / P. A. Crill // *J. Theor. Biol.* – 1977. – V. 64. – P. 503 – 516.

133. Camacho Rubio, F. A Mechanistic Model of Photosynthesis / F. Camacho Rubio // *Biotechnology and Bioengineering.* – 2004. – V. 81(4). – P. 459 – 473.

134. Jassby, A. D. Mathematical Formulation of the Relationship Between Photosynthesis and Light for Phytoplankton / A. D. Jassby, T. Platt // *Limnol Oceanogr.* – 1976. – V. 21(4). – P. 540 – 547.

135. Lee, H. Y. Kinetics and Bioenergetics of Light-Limited Photoautotrophic Growth of *Spirulina Platensis* / H. Y. Lee, L. E. Erickson, S. S. Yang // *Biotechnol Bioeng.* – 1987. – V. 29. – P. 832 – 843.

136. Han, B. P. Photosynthesis-Irradiance Response at Physiological Level: A Mechanistic Model / B. P. Han // *J. Theor. Biol.* – 2001. – V. 213. – P. 121 – 127.

137. Beardall, J. The Concept of Light Intensity Adaptation in Marine Phytoplankton: Some Experiments with *Phaeodactylum Tricornutum* / J. Beardall, I. Morris // *Mar Biol.* – 1976. – V. 37. – P. 377 – 387.

138. Falkowski, P. G. Effects of Light Intensity on Photosynthesis and Dark Respiration in Six Species of Marine Phytoplankton / P. G. Falkowski, T.G. Owens // *Mar Biol.* – 1978. – V. 45. – P. 289 – 295.

139. Denman, K. L. Modelling the Time Dependent Photoadaptation of Phytoplankton to Fluctuating Light / K. L. Denman, J. Marra // *Elsevier Oceanogr. Ser.* – 1986. – V. 42(C) – P. 341 – 359.

140. Comparative Evaluation of Compact Photobioreactors for Large-scale Monoculture of Microalgae / A. Sánchez Mirón, et al. // *J. Biotechnol.* – 1999. – V. 70. – P. 249 – 270.

141. Grobbelaar, J. U. The Influence of Light/dark Cycles in Mixed Algal Cultures on their Productivity / J. U. Grobbelaar // *Bioresour Technol.* – 1991. – V. 38. – P. 189 – 194.
142. Grobbelaar, J. U. Turbulence in Mass Algal Cultures and the Role of Light/Dark Fluctuations / J. U. Grobbelaar // *J. Appl. Phycol.* – 1994. – V. 6. – P. 331 – 335.
143. Janssen, M. Enclosed Outdoor Photobioreactors: Light Regime, Photosynthetic Efficiency, Scale-up, and Future Prospects / M. Janssen, et al. // *Biotechnol Bioeng.* – 2003. – V. 81(2). – P. 193 – 210.
144. Luo, H. P. Analyzing and Modeling of Photobioreactors by Combining First Principles of Physiology and Hydrodynamics / H. P. Luo // *Biotechnol Bioeng.* – 2004. – V. 85(4). – P. 382 – 393.
145. Jeon, Y. C. Measurement of Microalgal Photosynthetic Activity Depending on Light Intensity and Quality / Y. C. Jeon, C. W. Cho, Y. S. Yun // *Biochem Eng. J.* – 2005. – V. 27. – P. 127 – 131.
146. Yun, Y. S. Kinetic Modeling of the Light-Dependent Photosynthetic Activity of the Green Microalga *Chlorella Vulgaris* / Y. S. Yun, J. M. Park // *Biotechnol Bioeng.* – 2003. – V. 83(3). – P. 303 – 311.
147. Cornet, J. F. A Simple and Reliable Formula for Assessment of Maximum Volumetric Productivities in Photobioreactors / J. F. Cornet, C. G. Dussap // *Biotechnol Prog.* – 2009. – V. 25(2). – P. 424 – 435
148. Prediction of Volumetric Productivity of an Outdoor Photobioreactor / R. Bosma, et al. // *Biotechnol Bioeng.* – 2007. – V. 97(5). – P. 1108 – 1120.
149. Wu, X. Simulation of Algae Growth in a Bench Scale INTERNAL Loop Airlift Reactor / X. Wu, J. C. Merchuk // *Chem. Eng. Sci.* – 2004. – V. 59. – P. 2899 – 2912.
150. Numerical Analysis of Cumulative Impact of Phytoplankton Photoresponses to Light Variation on Carbon Assimilation / S. Esposito, et al. // *J. Theor. Biol.* – 2009. – V. 261. – P. 361 – 371.
151. Simulation of Microalgae Growth in Limiting Light Conditions: Flow Effect / J. Pruvost, et al. // *Bioeng. Food Nat. Prod.* – 2002. – V. 48(5). – P. 1109 – 1120.
152. Merchuk, J. C. Photobioreactors – Models of Photosynthesis and Related Effects / J. C. Merchuk, F. Carcia Camacho, E. Molina Grima // *Compr. Biotechnol.* – 2011. – V. 2. – P. 227 – 247.
153. Perner-Nochta, I. Simulations of Light Intensity Variation in Photobioreactors / I. Perner-Nochta, C. Posten // *J. Biotechnol.* – 2007. – V. 131. – P. 276 – 285.
154. Pruvost, J. Numerical Investigation of Hydrodynamic and Mixing Conditions in a Torus Photobioreactor / J. Pruvost, L. Pottier, J. Legrand // *Chem. Eng. Sci.* – 2006. – V. 61. – P. 4476 – 4489.

155. Application of Computational Fluid Dynamics for Modeling and Designing Photobioreactors for Microalgae Production: A Review / J. P. Bitog, et al. // *Comput. Electron. Agric.* – 2011. – V. 76. – P. 131 – 47.
156. A Mechanistic Model of Photosynthesis in Microalgae / F. Camacho Rubio // *Biotechnol. Bioeng.* – 2003. – V. 81(4). – P. 459 – 473.
157. Eilers, P. H. C. A Model for the Relationship Between Light Intensity and the Rate of Photosynthesis in Phytoplankton / P. H. C. Eilers, J. C. H. Peeters // *Ecol. Model.* – 1988. – V. 42. – P. 199 – 215.
158. Eilers, P. H. C. Dynamic Behavior of a Model for Photosynthesis and Photoinhibition / P. H. C. Eilers, J. C. H. Peeters // *Ecol. Model.* – 1993. – V. 69. – P. 113 – 133.
159. Modelling of Growth of *Porphyridium Cruentum* in Connection with Two Interdependent Factors: Light and Temperature / D. Dermoun, et al. // *Bioresour. Technol.* – 1992. – V. 42. – P. 113 – 117.
160. Megard, R. O. Kinetics of Oxygenic Photosynthesis in Planktonic Algae / R. O. Megard, D. W. Tonkyn, W. H. Senft // *J. Plankton Res.* – 1984. – V. 6(2). – P. 325 – 337.
161. A Comparative Study and Mathematical Modelling of Temperature, Light and Growth of Three Microalgae Potentially Useful for Wastewater Treatment / P. Talbot, et al. // *Water Res.* – 1991. – V. 25(4). – P. 465 – 472.
162. The Effects of Wavelength and Wavelength Mixing Ratios on Microalgae Growth and Nitrogen, Phosphorus Removal using *Scenedesmus* sp. for Wastewater Treatment / T.-H. Kim, et al. // *Bioresour. Technol.* – 2013. – V. 130. – P. 75 – 80.
163. Effect of Photoinhibition on Algal Photosynthesis: A Dynamic Model / B. P. Han, et al. // *J. Plankton Res.* – 2000. – V. 22(5). – P. 865 – 885.
164. Benemann, J. R. Microalgae Biotechnology / J. R. Benemann, D. M. Tillett, J. C. Weisman // *Trends Biotechnol.* – 1987. – V. 5(2). – P. 47 – 53.
165. Béchet, Q. Outdoor Cultivation of Temperature-Tolerant *Chlorella Sorokiniana* in a Column Photobioreactor under Low Power-Input / Q. Béchet, et al. // *Biotechnol. Bioeng.* – 2013. – V. 110(1). – P. 118 – 126.
166. Geider, R. J. A Dynamic Model of Photoadaptation in Phytoplankton / R. J. Geider, H. L. MacIntyre // *Limnol Oceanogr.* – 1996. – V. 41(1). – P. 1 – 15.
167. Pahlow, M. Linking Chlorophyll-Nutrient Dynamics to the Red-field N:C Ratio with a Model of Optimal Phytoplankton Growth / M. Pahlow // *Mar. Ecol. Prog. Ser.* – 2005. – V. 287. – P. 33 – 43.

168. Zonneveld, C. Light-Limited Microalgal Growth: A Comparison of Modeling Approaches / C. Zonneveld // *Ecol. Model.* – 1998. – V. 113. – P. 41 – 54.

169. Acién Fernández, F. G. A Model for Light Distribution and Average Solar Irradiance Inside Outdoor Tubular Photobioreactors for the Microalgal Mass Culture / F. G. Acién Fernández // *Biotechnol. Bioeng.* – 1997. – V. 55(5). – P. 701 – 714.

170. Light Intensity Distribution in the Externally Illuminated Cylindrical Photo-Bioreactor and its Application to Hydrogen Production by *Rhodobacter Capsulatus* / T. Katsuda, et al. // *Biochem. Eng. J.* – 2000. – V. 2000. – P. 157 – 164.

171. Suh, I. S. A Light Distribution Model for an Internally Radiating Photobioreactor / I. S. Suh, S. B. Lee // *Biotechnol. Bioeng.* – 2003. – V. 82(2). – P. 180 – 189.

172. Houf, W. G. An Assessment of Techniques for Predicting Radiation Transfer in Aqueous Media / W. G. Houf, F. P. Incropera // *J. Quant. Spectrosc Radiat Transfer.* – 1980. – V. 23. – P. 101 – 115.

173. Cornet, J. F. A Structured Model for Simulation of Cultures of the Cyanobacterium *Spirulina Platensis* in Photobioreactors: I. Coupling between Light Transfer and Growth Kinetics / J. F. Cornet, C. G. Dussap, G. Dubertret // *Biotechnol. Bioeng.* – 1992. – V. 40. – P. 817 – 825.

174. A Structured Model for Simulation of cultures of the Cyanobacterium *Spirulina Platensis* in Photobioreactors. II. Identification of Kinetic Parameters under Light and Mineral Limitations / J. F. Cornet, et al. // *Biotechnol. Bioeng.* – 1992. – V. 40. – P. 826 – 834.

175. Pruvost, J. Knowledge Models for the Engineering and Optimization of Photobioreactors / J. Pruvost, J. F. Cornet // *Microalgal Biotechnology : Potential and Production*, 2012. – V. 10. – P 181 – 224.

176. Cornet, J. F. Conversion of Radiant Light Energy in Photobioreactors / J. F. Cornet, C. G. Dussap, J. B. Gros // *AIChE.* – 1994. – V. 40. – P. 1055 – 1066.

177. Aiba, S. Growth Kinetics of Photosynthetic Microorganisms / S. Aiba // *Adv. Biochem. Eng.* – 1982. – V. 23. – P. 85 – 156.

178. Light Distribution in a Novel Photobioreactor – Modelling for Optimization / Z. Csogör, et al. // *J. Appl. Phycol.* – 2001. – V. 13. – P. 325 – 333.

179. The Practice of Recent Radiative Transfer Monte Carlo Advances and its Contribution to the Field of Micro-Organisms Cultivation in Photobioreactors / J. Dauchet, et al. // *J. Quant. Spectrosc Radiat Transfer.* – 2013. – V. 128. – P. 52 – 59.

180. Bordel, S. Mechanistic Model for the Reclamation of Industrial Wastewaters using Algal-Bacterial Photobioreactors / S. Bordel, B. Guieysse, R. Muñoz // *Environ Sci. Technol.* – 2009. – V. 43(9). – P. 3200 – 3207.
181. Bissinger, J. E. Predicting Marine Phytoplankton Maximum Growth Rates from Temperature: Improving on the Eppley Curve using Quantile Regression / J. E. Bissinger, D. J. S. Montagnes // *Limnol Oceanogr.* – 2008. – V. 53(2). – P. 487 – 493.
182. Eppley, R. W. Temperature Phytoplankton Growth in the Sea / R. W. Eppley // *Fish Bull.* – 1972. – V. 70. – P. 1063 – 1085.
183. Ahlgren, G. Temperature Functions in Biology and their Application to Algal Growth Constants / G. Ahlgren // *Oikos.* – 1987. – V. 49(2). – P. 177 – 190.
184. Bernard, O. Validation of a Simple Model Accounting for Light and Temperature Effect on Microalgal Growth / O. Bernard, B. Rémond // *Bioresour Technol.* – 2012. – V. 123. – P. 520 – 527.
185. Butterwick, C. Diversity in the Influence of Temperature on the Growth Rates of Freshwater Algae, and its Ecological Relevance / C. Butterwick, S. I. Heaney, J. F. Talling // *Freshw Biol.* – 2005. – V. 50. – P. 291 – 300.
186. Fawley, M. W. Effects of Light Intensity and Temperature Interactions on Growth Characteristics of *Phaeodactylum Tricornutum* (Bacillariophyceae) / M.W. Fawley // *J. Phycol.* – 1984. – V. 20. – P. 67 – 72.
187. Hawkins, D. M. The Problem of Overfitting / D. M. Hawkins // *J. Chem. Inf. Comput. Sci.* – 2004. – V. 44. – P. 1 – 12.
188. Duarte, P. A Mechanistic Model of the Effects of Light and Temperature on Algal Primary Productivity / P. Duarte // *Ecol. Model.* – 1995. – V. 82. – P. 151 – 160.
189. Universal Temperature Model for Shallow Algal Ponds Provides Improved Accuracy / Q. Béchet // *Environ Sci. Technol.* – 2011. – V. 45(8). – P. 3702 – 3709.
190. García Camacho, F. Use of Concentric-Tube Airlift Photobioreactors for Microalgal Outdoor Mass Cultures / F. García Camacho // *Enzyme Microb. Technol.* – 1999. – V. 24. – P. 164 – 172.
191. Torzillo, G. Temperature as an Important Factor Affecting Productivity and Night Biomass Loss in *Spirulina Platensis* Grown Outdoors in Tubular Photobioreactors / G. Torzillo, A. Sacchi, R. Materassi // *Bioresour Technol.* – 1991. – V. 38(2–3). – P. 95 – 100.
192. Collins, C. D. Physiological Responses of *Anabaena Variabilis* (Cyanophyceae) to Instantaneous Exposure to Various Combinations of Light Intensity and Temperature / C. D. Collins, C. W. Boylen // *J. Phycol.* – 1982. – V. 18. – P. 206 – 211.

193. Grobbelaar, J. U. Modeling Algal Productivity in Large Outdoor Cultures and Waste Treatment Systems / J. U. Grobbelaar // *Biomass*. – 1990. – V. 21. – P. 297 – 314.
194. Theoretical Investigation of Biomass Productivities Achievable in Solar Rectangular Photobioreactors for the Cyanobacterium *Arthrospira Platensis* / J. Pruvost, et al. // *Biotechnol Prog.* – 2012. – V. 28. – P. 699 – 714.
195. Chalker, B. E. Modelling Light Saturation Curves for Photosynthesis: an Exponential Function / B. E. Chalker // *J. Theor. Biol.* – 1980. – V. 84. – P. 205 – 215.
196. Cullen, J. J. On Models of Growth and Photosynthesis in Phytoplankton / J. J. Cullen // *Deep-Sea Res.* – 1990. – V. 37(4). – P. 667 – 683.
197. Design Principles of Photo-Bioreactors for Cultivation of Microalgae / C. Posten // *Eng. Life Sci.* – 2009. – V. 9(3). – P. 165 – 177.
198. Cornet, J. F. A Simplified Monodimensional Approach for Modeling Coupling Between Radiant Light Transfer and Growth Kinetics in Photobioreactors / J. F. Cornet, C. G. Dussap, J. B. Gros // *Chem. Eng. Sci.* – 1995. – V. 50(9). – P. 1489 – 1500.
199. Kurano, N. Selection of Microalgal Growth Models for Describing Specific Growth Rate-Light Response Using Extended Information Criterion / N. Kurano, S. Miyachi // *J. Biosci. Bioeng.* – 2005 – V. 100(4). – P. 403 – 408.
200. Béchet, Q. Mechanistic Modelling of Broth Temperature in Outdoor Photobioreactors / Q. Béchet // *Environ. Sci. Technol.* – 2010. – V. 44. – P. 2197 – 2203.
201. Hossain, S. Z. Mathematical Modeling of Temperature Effect on Algal Growth for Biodiesel Application / S. Z. Hossain // *Renewable Energy and Sustainable Buildings*. Springer. – 2020.
202. Benavides, M. Parameter Identification of Droop Model: an Experimental Case Study / M. Benavides // *Bioprocess Biosyst. Eng.* – 2015. – V. 38. – P. 1783 – 1793.
203. Deschênes, J.-S. Parameter Identification of a Dynamic Model of Cultures of Microalgae *Scenedesmus Obliquus* an Experimental Study / J.-S. Deschênes, A. V. Wouwer // *IFAC Papers On Line*. – 2016. – V. 49. – P. 1050 – 1055.
204. Modelling of Microalgal Growth and Lipid Production in *Dunaliella Tertiolecta* using Nitrogen-Phosphorus-Potassium Fertilizer Medium in Sintered Disk Chromatographic Glass Bubble Column / A. Kumar, et al. // *Bioresour. Technol.* – 2016. – V. 218. – P. 1021 – 1036.
205. A Dynamic Growth Model of *Dunaliella Salina*: Parameter Identification and Profile Likelihood Analysis / M. Fachtet, et al. // *Bioresour. Technol.* – 2014. – V. 173. – P. 21 – 31.

206. A Mathematical Model of Intracellular Behavior of Microalgae for Predicting Growth and Intracellular Components Syntheses under Nutrient-replete and Deplete Conditions / K. H. Ryu, et al. // *Biotechnol. Bioeng.* – 2018. – V. 115. – P. 2441 – 2455.
207. Sensitivity Analysis and Reduction of a Dynamic Model of a Bioproduction of Fructo-Oligosaccharides / R. Fekih-Salem, et al. // *Bioprocess Biosyst. Eng.* – 2019. – V. 42. – P. 1793 – 1808.
208. Droop, M. R. Some Thoughts on Nutrient Limitation in Algae / M. R. Droop // *J. Phycol.* – 1973. – V. 9. – P. 264 – 272.
209. Rhee, G. Y. Effects of N:P Atomic Ratios and Nitrate Limitation on Algal Growth, Cell Composition, and Nitrate Uptake / G. Y. Rhee // *Limnol. Oceanogr.* – 1978. – V. 23. – P. 10 – 25.
210. Multinutrient, Multi-Group Model of Present and Future Oceanic Phytoplankton Communities / E. Litchman, et al. // *Biogeosci. Discuss.* – 2006. – V. 3. – P. 607 – 663.
211. Bader, F. G. Analysis of Double-Substrate Limited Growth / F. G. Bader // *Biotechnol. Bioeng.* – 1978. – V. 20. – P. 183 – 202.
212. Spijkerman, E. Independent Colimitation for Carbon Dioxide and Inorganic Phosphorus / E. Spijkerman, F. De Castro, U. Gaedke // *PLoS One.* – 2011. – V. 6.
213. Yoon, H. Competition for Mixed Substrates by Microbial Populations / H. Yoon, G. Klinzing, H. W. Blanch // *Biotechnol. Bioeng.* – 1977. – V. 19. – P. 1193 – 1210.
214. Mankad, T. Model for Microbial Growth with More than One Limiting Nutrient / T. Mankad, H. R. Bungay // *J. Biotechnol.* – 1988. – V. 7. – P. 161 – 166.
215. Use of Fermentative Metabolites for Heterotrophic Microalgae Growth: Yields and Kinetics / V. Turon, et al. // *Bioresour. Technol.* – 2015. – V. 175. – P. 342 – 349.
216. Goldman, J. C. A Kinetic Approach to the Effect of Temperature on Algal Growth / J. C. Goldman, E. J. Carpenter // *Limnol. Oceanogr.* – 1974. – V. 19. – P. 756 – 766.
217. Beran, B. A Dynamic Mathematical Model for Wastewater Stabilization Ponds / B. Beran, F. Kargi // *Ecol. Model.* – 2005. – V. 181. – P. 39 – 57.
218. Kinetic Modeling of Microalgal Growth and Lipid Synthesis for Biodiesel Production / D. Surendhiran, et al. // *Biotech.* – 2015. – V. 5(5). – P. 663 – 669.
219. Production of Lipid-Based Fuels and Chemicals from Microalgae: an Integrated Experimental and Model-Based Optimization Study / M. Bekirogullari, et al. // *Algal Res.* – 2017. – V. 23. – P. 78 – 87.

220. Microalgae-Based Carbohydrates for Biofuel Production / C. Y. Chen, et al. // *Biochem. Biochem. Eng. J.* – 2013. – V. 78. – P. 1 – 10.
221. Oil Accumulation is Controlled by Carbon Precursor Supply for Fatty Acid Synthesis in *Chlamydomonas Reinhardtii* / J. Fan, et al. // *Plant and Cell Physiology.* – 2012. – V. 53. – P. 1380 – 1390.
222. Modelling Microalgae Growth in Nitrogen Limited Photobioreactor for Estimating Biomass, Carbohydrate and Neutral Lipid Productivities / F. Mairet, et. al. // *IFAC Proc.* – 2011. – V. 44. – P. 10591 – 10596.
223. Figueroa-Torres, G. M. Kinetic Modelling of Starch and Lipid Formation During Mixotrophic, Nutrient-Limited Microalgal Growth / G. M. Figueroa-Torres, J. K. Pittman, C. Theodoropoulos // *Bioresour. Technol.* – 2017. – V. 241. – P. 868 – 878.
224. Uni Prot. [Электронный ресурс] // UniProt Consortium. – URL : <https://www.uniprot.org/> (дата обращения: 11.11.2021).
225. Enzyme Data base [Электронный ресурс] // BRENDA. – URL : <https://www.brenda-enzymes.org/> (дата обращения: 11.11.2021).
226. ExPASy [Электронный ресурс] // Swiss Bioinformatics Resource Portal. – URL : <https://www.expasy.org/> (дата обращения: 11.11.2021).
227. Global Algal Database of Taxonomic, Nomenclatural and Distributional Information [Электронный ресурс] // *AlgaeBase.* – URL : <https://www.algaebase.org/> (дата обращения: 11.11.2021).
228. Boyle, N. R. Metabolic Flux Analysis of Heterotrophic Growth in *Chlamydomonas Reinhardtii* / N. R. Boyle, N. Sengupta, J. A. Morgan // *PLoS ONE.* – 2017. – V. 12.
229. Predicting Dynamic Metabolic Demands in the Photosynthetic Eukaryote *Chlorella vulgaris* / C. Zuciga, et al. // *Plant Physiol.* – 2017. – V. 176. – P. 450 – 462.
230. Reconstruction and Analysis of a Genome-Scale Metabolic Model of *Nannochloropsis Gaditana* / A. R. Shah, et al. // *Algal Res.* – 2017. – V. 26. – P. 354 – 364.
231. Reconstruction and Verification of a Genome-Scale Metabolic Model for *Synechocystis* sp. PCC6803 / K. Yoshikawa, et al. // *Appl. Microbiol. Biotechnol.* – 2011. – V. 92. – P. 347 – 358.
232. RNA-Seq and Metabolic Flux Analysis of *Tetraselmis* sp. M8 During Nitrogen Starvation Reveals a Two-Stage Lipid Accumulation Mechanism / Lim K. Y. David, et al. // *Bioresour Technol.* – 2017. – V. 244. – P. 1281 – 1293.
233. Reconstruction of the Lipid Metabolism for the Microalga *Monoraphidium Neglectum* from its Genome Sequence Reveals Characteristics Suitable for Biofuel Production / C. Bogen, et al. // *BMC Genomics.* – 2013. – V. 14, No. 926.

234. Genome-Wide Metabolic Network Reconstruction of the Picoalga *Ostreococcus* / E. W. Krumholz, et al. // *J. Exp. Bot.* – 2012. – V. 63. – P. 2353 – 2362.

235. DRUM: A New Framework for Metabolic Modeling under Non-Balanced Growth. Application to the Carbon Metabolism of Unicellular Microalgae / C. Baroukh, et al. // *PLoS ONE.* – 2013. – V. 12.

236. Genome-Scale Model Reveals Metabolic Basis of Biomass Partitioning in a Model Diatom / J. Levering, et al. // *PLoS ONE.* – 2016. – V. 11.

237. Gen Bank Overview [Электронный ресурс] // NCBI-НИИ. – URL : <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/> (дата обращения: 11.11.2021).

238. Metabolic Pathways From all Domains of Life [Электронный ресурс] // MetaCyc. – URL : <https://www.metacyc.org/> (дата обращения: 11.11.2021).

239. EMBL-EBI [Электронный ресурс] // The European Bioinformatics Institute. – URL : <https://www.ebi.ac.uk/> (дата обращения: 11.11.2021).

240. Bioinformation and DNA Data Bank of Japan Center [Электронный ресурс] // DDBJ. – URL : <https://www.ddbj.nig.ac.jp/> (дата обращения: 11.11.2021).

241. Thermosensitivity of Growth Is Determined by Chaperone-Mediated Proteome Reallocation / K. Chen, et al. // *Proc Natl Acad Sci.* – 2017. – V. 114.

242. Singh, D. Network Reduction Methods for Genome-Scale Metabolic Models / D. Singh, M. J. Lercher // *Cellular and Molecular Life Sciences.* – 2020. – V. 77. – P. 481 – 488.

243. Orth, D. J. What is Flux Balance Analysis? / D. J. Orth, I. Thiele, O. B. Palsson // *Nature Biotechnology.* – 2010. – V. 28. – P. 245 – 248.

244. Dynamic Flux Balance Modeling to Increase the Production of High-Value Compounds in Green Microalgae / R. J. Flassig, et al. // *Biotechnol. Biofuels.* – 2016. – V. 9.

245. Brunner, J. D. Minimizing the Number of Optimizations for Efficient Community Dynamic FLux Balance Analysis / J. D. Brunner, N. Chia // *The Preprint Server for Biology.* – 2020.

246. Dynamic Flux Balance Analysis to Evaluate the Strain Production Performance on Shikimic Acid Production in *Escherichia coli* / A. Miyawaki, et al. // *Math. Biosci.* – 2016. – V. 282.

247. Tourigny, D. S. Simulating Single-Cell Metabolism Using a Stochastic Flux-Balance Analysis Algorithm / D. S. Tourigny, A. P. Goldberg, J. R. Karr // *The Preprint Server for Biology.* – 2020.

248. Distributed Flux Balance Analysis Simulations of Serial Biomass Fermentation by Two Organisms / E. Vitkin, et al. // *Plos One*. – 2020.
249. Metabolomics Integrated Elementary Flux Mode Analysis in Large Metabolic Networks / M. P. Gerstl, et al. // *Sci. Rep.* – 2015. – V. 5.
250. Mahadevan, R. Dynamic Flux Balance Analysis of Diauxic Growth in *Escherichia Coli* / R. Mahadevan, J. S. Edwards, F. J. Doyle // *Biophys J.* – 2002. – V. 83. – P. 331 – 340.
251. Nadal-Rey, G. N. Development of Dynamic Compartment Models for Industrial Aerobic Fed-Batch Fermentation Processes / G. N. Nadal-Rey // *Biotechnology Adv.* – 2021. – V. 46.
252. Vonshak, A. Mass Production of the Blue-Green Alga *Spirulina*: an Overview / A. Vonshak, A. Richmond // *Biomass.* – 1988. – V. 15(4). – P. 233 – 247.
253. Lee, Y. K. Microalgal Mass Culture Systems and Methods: their Limitation and Potential / Y. K. Lee // *Journal of applied phycology.* – 2001. – V. 13(4). – P. 307 – 315.
254. Benemann, J. R. Systems and Economic Analysis of Microalgae Ponds for Conversion of Carbon Dioxide to Biomass / J. R. Benemann, W. J. Oswald // *Pittsb. Energy Technol. Center.* – 1996.
255. Oswald, W. J. Large-Scale Production of Algae / W. J. Oswald, C. Goleuke // *Calif. Univ., Berkeley.* – 1967. – No. PB-296411.
256. Mass Production of Microalgae: Photobioreactors / M. R. Tredici, et al. // *Handbook of microalgal culture: Biotechnology and applied phycology.* – 2004. – Ch. 9. – P. 178 – 214.
257. Fernandes, B. D. Continuous Cultivation of Photosynthetic Microorganisms: Approaches, Applications and Future Trends / B. D. Fernandes, A. Mota, J. A. Teixeira // *Biotechnology Advances.* – 2015. – V. 33, No. 6. – P. 1228 – 1245.
258. Vasumathi, K. K. Parameters Influencing the Design of Photobioreactor for the Growth of Microalgae / K. K. Vasumathi, M. Premalatha, P. Subramanian // *Renewable and Sustainable Energy Reviews.* – 2012. – V. 16, No. 7. – P. 5443 – 5450.
259. Microalgae Cultivation in Photobioreactors: An Overview of Light Characteristics / S. K. Wang, et al. // *Engineering in Life Sciences.* – 2014. – V. 14, No. 6. – P. 550 – 559.
260. Chanquia, S. N. Photobioreactors for Cultivation and Synthesis: Specifications, Challenges, and Perspectives / S. N. Chanquia, G. Vernet, S. Kara // *Engineering in Life Sciences.* – 2021. – P. 1 – 11.
261. Borella, L. Effect of Residence Time in Continuous Photobioreactor on Mass and Energy Balance of Microalgal Protein Production / L. Borella, E. Sforza, A. Bertuccio // *New Biotechnology.* – 2021. – V. 64. – P. 46 – 53.

262. Владимирова, М. Г. Массовое культивирование микроскопических водорослей [Электронный ресурс] / М. Г. Владимирова, В. Е. Семеновенко // Жизнь растений. Т. 3. Водоросли. Лишайники. 1977. – URL : <http://volimo.ru/books/item/f00/s00/z0000006/st145.shtml> (дата обращения: 07.11.21).

263. Progress in Microalgae Cultivation Photobioreactors and Applications in Wastewater Treatment: A Review / H. Ting, L. Haifeng, M. Shanshan, et al. // *Int. J. Agric. & Biol. Eng.* – 2017. – V. 10, No. 1. – P. 1 – 29.

264. De-Bashan, L. E. Immobilized Microalgae for Removing Pollutants: Review of Practical Aspects / L. E. De-Bashan, Y. Bashan // *Bioresour. Technol.* – 2010. – V. 101, No. 6. – P. 1611 – 1627.

265. Hameed, M. Biotechnological Potential Uses of Immobilized Algae / M. Hameed, O. Ebrahim // *J. Agric. Biol.* – 2007. – V. 9, No. 1. – P. 183 – 192.

266. Потенциальная продуктивность микроводорослей в промышленных фотобиореакторах / Л. Н. Цоглин, Б. В. Габель, Т. Н. Фалькович и др. – М. : Физиология растений, 2000. – Т. 47(5). – С. 761 – 767.

267. Growth Comparison of Microalgae in Tubular Photobioreactor and Open Pond for Treating Anaerobic Digestion Piggery Effluent / E. G. Nwoba, et al. // *Algal Research.* – 2016. – V. 17. – P. 268 – 276.

268. Influence of pH and CO₂ Source on the Performance of Microalgae-Based Secondary Domestic Wastewater Treatment in Outdoors Pilot Raceways / E. Posadas, et al. // *Chemical Engineering Journal.* – 2015. – V. 265. – P. 239 – 248.

269. Performance of a Flat Panel Reactor in the Continuous Culture of Microalgae in Urban Wastewater: Prediction from a Batch Experiment / J. Ruiz, et al // *Bioresour. Technol.* – 2013. – V. 127. – P. 456 – 463.

270. Cultivation of *Chlorella Protothecoides* with Urban Wastewater in Continuous Photobioreactor: Biomass Productivity and Nutrient Removal / E. A. R. Tercero, et al. // *Applied Biochemistry and Biotechnology.* – 2014. – Vol. 172(3). – P. 1470 – 1485.

271. Biodiesel Production from Algae Cultivated in Winter with Artificial Wastewater Through pH Regulation by Acetic Acid / L. Zhu, et al // *Applied Energy.* – 2014. – V. 128. – P. 103 – 110.

272. Microalgae Cultivation in Wastewater: Nutrient Removal from Anaerobic Membrane Bioreactor Effluent / A. Ruiz-Martinez, et al. // *Bioresour. Technol.* – 2012. – V. 126. – P. 247 – 253.

273. Tan, X. *Chlorella Pyrenoidosa* Cultivation Using Anaerobic Digested Starch Processing Wastewater in an Airlift Circulation Photobioreactor / X. Tan, H. Chu, Y. Zhang // *Bioresour Technol.* – 2014. – V. 170. – P. 538 – 548.

274. Arbib, Z. Long Term Outdoor Operation of a Tubular Airlift Pilot Photobioreactor and a High Rate Algal Pond as Tertiary Treatment of Urban Wastewater / Z. Arbib, J. Ruiz, P. Alvarez-Diaz // *Ecological Engineering*. – 2013. – V. 52. – P. 143 – 153.

275. Phycoremediation of Alcohol Distillery Wastewater with a Novel *Chlorella sorokiniana* Strain Cultivated in a Photobioreactor Monitored On-line Via Chlorophyll Fluorescence / A. Solovchenko, et al. // *Algal Research*. – 2014. – V. 6. – P. 234 – 241.

276. Boonchai, R. Microalgae Membrane Photobioreactor for Further Removal of Nitrogen and Phosphorus from Secondary Sewage Effluent / R. Boonchai, G. Seo // *Korean Journal of Chemical Engineering*. – 2015. – V. 32(10). – P. 2047 – 2052.

277. Biomass and Bioenergy Production Potential of Microalgae Consortium in Open and Closed Bioreactors Using Untreated Carpet Industry Effluent as Growth Medium / S. Chinnasamy, et al. // *Bioresour. Technol.* – 2010. – V. 101(17) – P. 6751 – 6760.

278. Marin, A. R. Growth and Nutrient Removal in Free and Immobilized Green Algae in Batch and Semi-Continuous Cultures Treating Real Wastewater / A. R. Marin, L. G. Mendoza-Espinosa, T. Stephenson // *Bioresour. Technol.* – 2010. – V. 101(1). – P. 58 – 64.

279. Eldridge, R. J. A Comparative Study of the Coagulation Behavior of Marine Microalgae / R. J. Eldridge, D. R. A. Hill, B. R. Gladman // *J. Appl. Phycol.* – 2012. – V. 24. – P. 1667.

280. Harvesting of Microalgae: Overview of Process Options and their Strengths and Drawbacks / K. Muylaert, L. Bastiaens, D. Vandamme, L. Gouveia // *Microalgae-based biofuels and bioproducts*. – 2017. – P. 113.

281. Inhibition of Alkaline Flocculation by Algal Organic Matter for *Chlorella Vulgaris* / D. Vandamme, A. Beuckels, E. Vadelius, O. Depraetere, W. Noppe, A. Dutta, I. L. L. Foubert, K. Muylaert // *Water Res.* – 2016. – V. 88. – P. 301.

282. Технология получения липидов из микроводорослей : монография / Д. С. Дворецкий, С. И. Дворецкий, М. С. Темнов и др. – Тамбов : Изд-во ФГБОУ ВО «ТГТУ», 2015.

283. Al Hattab, M. Microalgae Harvesting Methods for Industrial Production of Biodiesel: Critical Review and Comparative Analysis / M. Al Hattab, A. Ghaly, A. Hammoud // *J. Fundam Renew Energy Appl.* – 2015.

284. Effective Harvesting of Microalgae by Coagulation – Flotation / L. Xia, Y. Li, R. Huang, S. Song // *Society Open Science*. – 2017. – V. 4, No. 11.

285. Baudelet, P.-H. A New Insight into Cell Walls of Chlorophyta / P.-H. Baudelet, G. Ricochon, M. Muniglia Linder // *Algal Research*. – 2017. – V. 25. – P. 333.

286. Jegathese, S. J. P. Microalgae as a Renewable Source of Energy: A Niche Opportunity / S. J. P. Jegathese, M. Farid // *J. Renew Energy*. – 2014. – P. 1.
287. Life-Cycle Assessment of Biodiesel Production from Microalgae / L. Lardon, A. Helias, B. Sialve, J. P. Steyer, O. Bernard // *Environ. Sci. Technol.* – 2009. – V. 43. – P. 6475.
288. Cell Disruption for Microalgae Biorefineries / E. Günerken, E. Dhondt, M. Eppink, L. Garcia-Gonzalez, K. Elst, R. H. Wijffels // *Biotechnol. Adv.* – V. 33. – P. 243.
289. Roux, J.-M. An Overview of Microalgae Lipid Extraction in a Biorefinery Framework / J.-M. Roux, H. Lamotte // *Energy Procedia*. – 2017. – V. 112. – P. 680.
290. Microalgal Drying and Cell Disruption-Recent Advances / K. Y. Show, D. J. Lee, J. H. Tay, T. M. Lee, J. S. Chang // *Bioresour. Technol.* – 2015. – V. 184. – P. 258.
291. Methods of Downstream Processing for the Production of Biodiesel from Microalgae / J. Kim, G. Yoo, H. Lee, J. Lim, K. Kim, C. W. Kim, M. S. Park, J. W. Yang // *Biotechnology Advances*. – 2013. – V. 31. – P. 862.
292. Lenneman, E. M. Potential Application of Algicidal Bacteria for Improved Lipid Recovery with Specific Algae / E. M. Lenneman, P. Wang, B. M. Barney // *FEMS Microbol Lett.* – 2014. – V. 354. – P. 102.
293. Demuez, M. Algicidal Microorganisms and Secreted Algicides: New Tools to Induce Microalgal Cell Disruption / M. Demuez, C. González-Fernández, M. Ballesteros // *Biotechnol. Adv.* – 2015. – V. 33. – P. 1615.
294. The Study of the Lipid Extraction Process for the Production of Third-generation Biofuel from the Pre-treated Microalgae *Chlorella Vulgaris* Biomass / D. Dvoretzky, S. Dvoretzky, M. Temnov, E. Tugolukov, E. Akulinin, O. Golubyatnikov, Y. Ustinskaya, M. Eskova // *Chemical Engineering Transactions*. – 2019. – V. 74. – P. 73.
295. A Review on Lipid Production from Microalgae: Association Between Cultivation Using Waste Streams and Fatty Acid Profiles / F. Ferreira, G. & R. Pinto, L. & F. Rubens, L. Fregolente // *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. – 2019. – V. 109. – P. 448.
296. Halim, R. Extraction of Oil from Microalgae for Biodiesel Production: A Review / R. Halim, M. K. Danquah, P. A. Webley // *Biotechnol Adv.* – 2012. – V. 30. – P. 709.
297. From Current Algae Products to Future Biorefinery Practices: A Review / M. H. M. Eppink, G. Olivieri, H. Reith, van den Berg C., M. J. Barbosa, R. H. Wijffels // *Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology*. – 2019. – V. 166. – P. 99 – 123.

ТЕРМИНЫ И ОПРЕДЕЛЕНИЯ

В учебном пособии применяют следующие термины с соответствующими определениями:

| | | |
|---|---|---|
| Автофлокуляция | – | процесс самопроизвольного осаждения |
| Альгициды | – | химические препараты из группы гербицидов и биоцидов для уничтожения бактерий, грибов и водорослей |
| Астаксантин | – | каротиноид, относящийся к группе ксантофиллов |
| АТФ-синтаза | – | группа ферментов, относящихся к классу транслоказ и синтезирующих аденозинтрифосфат из аденозиндифосфата и неорганического фосфата |
| Барботаж | – | процесс пропускания газа через слой жидкости |
| Биокластер | – | группа предприятий, поставщиков, научно-исследовательских и образовательных организаций в сфере биотехнологий, сотрудничающих по принципу территориальной близости и функциональной зависимости в процессе производства |
| Гетеротрофы | – | организмы, получающие энергию из готовых органических веществ |
| Гликолиз, или путь Эмбдена– Мейергофа– Парнаса | – | процесс окисления глюкозы, при котором из одной молекулы глюкозы образуются две молекулы пировиноградной кислоты |
| Гистерезис | – | явление, которое состоит в том, что физическая величина, характеризующая состояние тела, неоднозначно зависит от физической величины, характеризующей внешние условия |
| Дезинтеграция | – | разрушение с помощью физического, химического или иного воздействия |
| Деионизация | – | процесс исчезновения положительных и отрицательных ионов |
| Денатурация белков | – | изменение структуры белка под действием дестабилизирующих факторов |

| | |
|--|--|
| Диауксия | – явление двуциклического роста микробной популяции на несменяемой среде, содержащей смесь питательных веществ |
| иРНК | – РНК, содержащая информацию о первичной структуре (аминокислотной последовательности) белков |
| Изотропичность | – одинаковость физических свойств во всех направлениях, инвариантность, симметрия по отношению к выбору направления |
| Иммобилизация | – процесс фиксации клеток на носителе |
| Константа ингибирования | – константа диссоциации двойного фермент-субстратного комплекса |
| Константа полунасыщения | – концентрация субстрата, при которой удельная скорость роста принимает значение половины максимальной |
| Контаминация | – процесс загрязнения одного биологического агента другим |
| Кооперативность | – биохимическое явление, характерное для ферментов, которые имеют множественные сайты связывания |
| Культуральная жидкость | – многокомпонентная жидкая система, содержащая клетки-продуценты, их продукты жизнедеятельности и остаточные компоненты питательной среды |
| Лиофильная сушка | – способ мягкой сушки веществ, при котором высушиваемый препарат замораживается, а затем помещается в вакуум, где происходит возгонка растворителя |
| Максимальная удельная скорость роста | – максимальная возможная скорость роста, не ограниченная концентрацией субстрата |
| Метод вычислительной гидродинамики (CFD) | – подраздел механики сплошных сред, включающий совокупность физических, математических и численных методов, предназначенных для вычисления характеристик потоковых процессов |
| Миксотрофы | организмы, способные получать энергию посредством как фототрофного, так и гетеротрофного типов питания |
| Неполярный растворитель | – растворители, имеющие низкую диэлектрическую проницаемость |

| | |
|---|--|
| Нуклеиновые кислоты | – биополимеры, которые являются носителями генетической (наследственной) информации |
| Нутрицевтик | – биологически активные добавки, применяемые для направленного изменения состава пищи |
| Пентозофосфатный путь окисления углеводов | – альтернативный путь окисления глюкозы, включающий в себя окислительный и не-окислительный этапы |
| Полярный растворитель | – растворитель, молекулы которого обладают электрическим дипольным моментом |
| Продуктивность водорослей | – скорость производства чистой биомассы, выраженная как разность скорости фотосинтеза и скорости эндогенного дыхания |
| Путь Энтнера–Дудорова | – путь окисления глюкозы, приводящий к образованию из одной молекулы глюкозы двух молекул пирувата, одной молекулы АТФ и двух молекул восстановленных пиридиновых нуклеотидов |
| Реакция Мелера | – восстановление кислорода O_2 до супероксид-анион-радикала O_2^- с помощью электронов, полученных от фотосистемы I в условиях избыточного освещения |
| Репликация | – процесс создания двух дочерних молекул ДНК на основе родительской молекулы ДНК |
| Световая акклиматизация | – перестраивание клеточной физиологии и биохимии, связанное с фотосинтезом |
| «Световая история» | – количество света, получаемого клеткой при её перемещении по реактору |
| Световое ингибирование | – деградация белков при высокой интенсивности света, вызванная снижением скорости фотосинтеза с течением времени |
| Свободная энергия Гиббса | – величина, которая показывает, какая часть от полной внутренней энергии системы может быть использована для химических превращений или получена в их результате в заданных условиях |
| Седиментация | – оседание частиц (клеток) в жидкой фазе |
| Синтез-газ | – смесь монооксида углерода и водорода |

| | | |
|---------------------------|---|--|
| Силы Ван-дер-Ваальса | – | силы межмолекулярного (и межатомного) воздействия с энергией 10...20 кДж/моль |
| Термолабильность | – | неустойчивость к тепловому воздействию |
| Транскрипция | – | процесс переписывания наследственной информации с молекулы ДНК на информационную (матричную) РНК |
| Удельная скорость роста | – | относительный прирост плотности культуры за малый промежуток времени в пересчёте на единицу биомассы |
| Фотодыхание | – | стимулируемое светом выделение углекислого газа и поглощение кислорода у фотоавтотрофных микроорганизмов |
| Фотоингибирование | – | индуцируемое светом снижение фотосинтетической активности фотоавтотрофных микроорганизмов |
| Фотосинтетическая единица | – | клеточная единица, ответственная за фотосинтетический процесс, приводящий к генерации АТФ и НАДФ |
| Флокуляция | – | физико-химический процесс слипания мелких частиц дисперсных систем в более крупные под влиянием сил сцепления |
| Фотоавтотрофы | – | организмы, использующие свет для получения энергии |
| Цикл Кальвина–Бенсона | – | последовательность биохимических реакций, осуществляемая при фотосинтезе фотоавтотрофными микроорганизмами для фиксации углекислого газа |
| Цикл Кребса | – | серия биохимических реакций, в ходе которых образуется углекислый газ и АТФ |
| Экзометаболиты | – | продукты обмена веществ, выделяемые из клетки |
| Экзополисахариды | – | высокомолекулярные полимеры, состоящие из остатков сахаров и являющиеся барьером между клетками и окружающей средой |
| Экспрессия | – | процесс, в ходе которого наследственная информация от гена преобразуется в РНК или белок |
| Экстинкция | – | ослабление пучка света при его распространении в веществе за счёт совместного действия поглощения света и рассеяния света |
| Электропорация | – | создание пор в бислоидной липидной мембране под действием электрического поля |

| | |
|------------------------|---|
| Эндогенное дыхание | – потребление химической энергии в дневное и потребление органического материала в ночное время |
| Эндометаболиты | – продукты обмена веществ, накапливаемые внутри клетки |
| Энергия активации | – эмпирически определяемый параметр, характеризующий показательную зависимость константы скорости реакции от температуры |
| Эрлифт | – разновидность струйного насоса |
| Эффект вспышки света | – момент времени после захвата фотонов, когда клетки преобразуют энергию света в АТФ и НАДФ, в течение которого любой фотон, достигший возбуждённых ФСЕ, тратится впустую |
| Эффект диауксии | – приспособление микроорганизмов к росту в средах, содержащих два разных источника углерода, микроорганизмы используют сначала один из источников (с помощью конститутивного фермента), а затем – другой (с помощью адаптивного фермента) |
| Эффект мигающего света | – увеличение эффективности фотосинтеза в результате воздействия на клетки мигающего света |
| FBA-анализ | – метод математического моделирования метаболизма, позволяющий определить скорость реакций в метаболической сети (одном пути или наборе путей) |

ПЕРЕЧЕНЬ СОКРАЩЕНИЙ И ОБОЗНАЧЕНИЙ

В учебном пособии применяют следующие сокращения и обозначения:

| | | |
|-------------|---|--|
| 1,3BPG | – | 1,3-дифосфоглицерат |
| 3PG | – | 3-фосфоглицерат |
| ΔG | – | свободная энергия Гиббса |
| АКГ | – | α-кетоглутарат |
| АО | – | аппаратурное оформление |
| АТФ | – | аденозинтрифосфорная кислота |
| АТФ-синтаза | – | аденозинтрифосфатсинтаза |
| АцКоА | – | ацетилКоА |
| БМ | – | биомасса |
| БТС | – | биотехнологические системы |
| БТП | – | биотехнологические процессы |
| Глик | – | гликолат |
| Глиц | – | глицерат |
| ГЛК | – | глиоксилат |
| Глюк | – | глюкоза |
| ГП | – | гидроксипируват |
| ДГК | – | докозагексаеновая кислота |
| ДНК | – | деоксирибонуклеиновая кислота |
| ЖК | – | жирные кислоты |
| иРНК | – | информационная (матричная) РНК |
| Крл | – | крахмал |
| Мал | – | малат |
| МБТС | – | многопродуктовые биотехнологические системы |
| МЭ | – | микроэлементы |
| НАД(Ф)Н | – | никотинамидадениндинуклеотидфосфат |
| НЛП | – | нелинейное программирование |
| ОАА | – | оксалоацетат |
| ОП | | оптическая плотность |
| ОПГ | – | обобщённый приведённый градиент |
| Пир | – | пируват |
| Пируват | – | пировиноградная кислота |
| ПКП | – | последовательное квадратичное программирование |
| ПМ | – | посевной материал |
| ПС | – | питательная среда |
| РНК | – | рибонуклеиновая кислота |

| | | |
|-----------------------|---|--|
| Рубиско | – | рибулозо-1,5-бисфосфаткарбоксилаза/оксигеназа |
| САПР | – | система автоматизации проектных работ |
| САС | – | системы автоматической стабилизации |
| САУ | – | системы автоматического управления |
| СВ | – | сухой вес |
| СВЧ | – | сверхвысокочастотное излучение |
| СДО | – | системы динамической оптимизации |
| ССО | – | системы статической оптимизации |
| Сук | – | сукцинат |
| США | – | Соединённые Штаты Америки |
| ТАГ | – | триглицериды |
| УРП | – | уравнения радиационного переноса |
| ТЗ | – | техническое задание |
| ФГЛ | – | 2-фосфогликолат |
| ФДФ | – | фруктозо-1,6-бисфосфат |
| ФЕП | – | фосфоенолпируват |
| ФС I | – | фотосинтетическая система I |
| ФС II | – | фотосинтетическая система II |
| ФСЕ | – | фотосинтетическая единица |
| Фум | – | фумарат |
| Цит | – | цитрат |
| ЭВМ | – | электронно-вычислительная машина |
| ЭПК | – | эйкозопентаеновая кислота |
| <i>A. platensis</i> | | <i>Arthrospira platensis</i> |
| Ala | – | аланин |
| Arg | – | аргинин |
| Asn | – | аспарагин |
| Asp | – | аспаратат |
| АТФ | – | adenosine triphosphate |
| B ₂ | – | рибофлавин |
| B ₅ | – | пантотеновая кислота |
| B ₆ | – | пиридоксин |
| B ₁₂ | – | кобаламин |
| BECCS | – | bioenergy with carbon capture and storage |
| bioCCU | – | biomass energy with carbon capture and utilization |
| BRENDA | – | Braunschweig Enzyme Database |
| <i>C. reinhardtii</i> | – | <i>Chlamydomonas reinhardtii</i> |
| CCS | – | carbon capture and storage |
| CCS-EOR | – | carbon capture and storage, enhanced oil recovery |
| CCUS | – | carbon capture, utilization, and sequestration |
| CDF | – | computational fluid dynamic |

| | |
|-------------------------------|--|
| CERC | – Clean Energy Research Center |
| CO ₂ | – углекислый газ |
| Cys | – цистеин |
| DDBJ | – DNA-Database of Japan |
| DNA | – deoxyribonucleic acid |
| DHA3P | – дегидроксиацетон-3-фосфат |
| E4P | – эритрозо-4-фосфат |
| EMBL | – European Molecular Biology Laboratory |
| F6P | – фруктозо-6-фосфат |
| FBA | – FluxBalanceAnalysis |
| G3P | – глицеральдегид-3-фосфат |
| G6P | – глюкозо-6-фосфат |
| Gln | – глутамин |
| Glu | – глутамат |
| Gly | – глицин |
| <i>I. galbana</i> | – <i>Isochrysis galbana</i> |
| Ile | – изолейцин |
| IEA | – International Energy Agency |
| K ⁺ | – катион калия |
| KEGG | – Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes |
| Leu | – лейцин |
| Lys | – лизин |
| Met | – метионин |
| NADH | – nicotinamide adenine dinucleotide |
| NADPH | – nicotinamide adenine dinucleotide phosphate |
| NCBI | – National Center for Biotechnology Information |
| NCCS | – the Norwegian carbon capture and storage Research Centre |
| NO ₃ ⁻ | – нитрат анион |
| NO _x | – оксиды азота NO и NO ₂ |
| O ₂ | – кислород |
| <i>P. tricornutum</i> | – <i>Phaeodactylum tricornutum</i> |
| Phe | – фенилаланин |
| PO ₄ ³⁻ | – фосфат анион |
| ppm | – parts per million |
| Pro | – пролин |
| R5P | – рибозо-5-фосфат |
| RuBP | – рибулозо-1,5-дифосфат |
| S1,7BP | – седогептулозо-1,7-дифосфат |
| S7P | – седогептулозо-7-фосфат |

| | |
|------------------------------|---|
| Ser | – серин |
| SO_4^{2-} | – сульфат анион |
| SO_x | – оксиды серы SO_2 и SO_3 |
| sp. | – species |
| Thr | – треонин |
| Trp | – триптофан |
| Tyr | – тирозин |
| Val | – валин |
| VAP | – value-added processes |
| UKCCSRC | – the UK Carbon Capture and Storage Research Centre |
| UniProt | – Universal Protein Resource |
| WRI | – World Resource Institute |
| μ | – удельная скорость роста |
| μ_{\max} | – максимальная удельная скорость роста |
| S | – концентрация субстрата |
| K_S | – константа полунасыщения (предел хранения субстрата при максимальной удельной скорости роста) |
| K_i | – константа ингибирования |
| $\bar{\mu}$ | – теоретическая максимальная удельная скорость роста |
| $q_{S,0}$ | – минимальная клеточная квота, необходимая для роста |
| q_S | – клеточная квота |
| $K_{q,S}$ | – константа полунасыщения (клеточная квота, при которой удельная скорость роста достигает половины своего максимального значения, определяемого лизисом клеток) |
| μ_{m1} | – максимальная удельная скорость роста, при концентрации субстрата больше нуля |
| P^C | – удельная скорость светонасыщенного фотосинтеза углерода |
| P_m^C | – светонасыщенная скорость фотосинтеза, нормализованная по отношению к углероду |
| α^{chl} | – начальный наклон кривой « $P-I$ », нормализованной по отношению к $Chl\ a$ |
| I | – освещённость (интенсивность света) |
| θ | – отношение $Chl\ a$:углерод |
| $\left(\frac{dC}{dt}\right)$ | – чистая скорость накопления углерода |

| | |
|--------------------------------|--|
| $\left(\frac{dChl}{dt}\right)$ | – чистая скорость накопления хлорофилла |
| R^C | – константа скорости деградации углерода (или скорости респирации) |
| ζ | – затраты на биосинтез |
| R^{Chl} | – константа скорости деградации для <i>Chl α</i> |
| ρ_{Chl} | – отношение синтеза <i>Chl α</i> к фиксации углерода |
| K | – константа удельной скорости реакции |
| R | – универсальная газовая постоянная |
| T | – температура |
| T_0 | – эталонное значение температуры |
| E | – энергия активации |
| k | – константа Больцмана |
| T_{min} | – температура, ниже которой рост считается равным нулю |
| T_{opt} | – температура, при которой достигается максимальная скорость роста |
| T_{max} | – температура, выше которой рост отсутствует |
| P | – (удельная) скорость фотосинтеза |
| i_k | – порог насыщения |
| I_{inhib} | – ингибирующий порог |
| P_m | – максимальная удельная скорость фотосинтеза |
| I_0 | – интенсивность падающего света |
| $P(l)$ | – локальная объёмная скорость фотосинтеза |
| l | – расстояние от внешней поверхности системы до рассматриваемой позиции |
| σ | – коэффициент экстинкции, отражающий уровень поглощения света средой |
| X | – концентрация клеток |
| V | – объём культуры |
| dV | – объём дискретных элементов |
| $I(l)$ | – локальная интенсивность света |
| I_0 | – интенсивность света на начальном этапе |
| k_1 | – эмпирическая константа |
| k_2 | – эмпирическая константа |
| I_{av} | – средняя интенсивность света в культуральном бульоне |
| $\mu(I)$ | – удельная скорость роста при интенсивности света I |
| $\mu_{m,0}(I)$ | – максимальная удельная скорость роста при интенсивности света I |

| | |
|--------------|--|
| E_a | – энергия активации фотосинтеза |
| E_a' | – энергия денатурации ферментов |
| β_1 | – константа |
| $I_{opt}(T)$ | – оптимальная интенсивность света для фотосинтеза при температуре T |
| R_0 | – скорость дневного дыхания |
| R_N | – скорость поддержания в ночное время |
| λ | – константа (выраженная в единицу времени) |
| S_1 | – константа половины скорости |
| K_1 | – константа половины полунасыщения |
| μ_∞ | – скорость роста при бесконечной квоте |
| $Q_{min, P}$ | – минимальная квота фосфора |
| $Q_{min, N}$ | – минимальная квота азота |
| $\mu(S_n)$ | – скорость роста с одним питательным веществом |
| W_n | – весовая функция |
| $f(x_i)$ | – функция лимитирующего ресурса x_i |
| q_P | – уровни клеток P |
| q_N | – уровни клеток N |
| q_{0P} | – минимальные концентрации клеток P |
| q_{0N} | – минимальные концентрации клеток N |
| q_{Prod} | – удельная скорость образования продукта |
| α | – эмпирические константы (при $\alpha = 0$ образование продукта не связано с ростом) |
| β | – эмпирические константы (при $\beta = 0$ образование продукта связано с ростом) |

ОГЛАВЛЕНИЕ

| | |
|--|----|
| Введение | 3 |
| Глава 1. Продукты из микроводорослей | 5 |
| Глава 2. Особенности устройства и жизнедеятельности микроводорослей и цианобактерий | 13 |
| 2.1. Морфологический анализ микроводорослей. Особенности видов | 13 |
| 2.2. Анализ основных биохимических процессов в клетках микроводорослей, зависящих от содержания углерода в питании | 14 |
| 2.3. Морфологический анализ цианобактерий. Анализ основных биохимических процессов, протекающих в клетках | 17 |
| Глава 3. Влияние условий культивирования на скорость протекания биохимических процессов и состав ценных веществ в культивируемой биомассе | 20 |
| 3.1. Потенциальные способы изменения интенсивности и эффективности протекания процессов жизнедеятельности фотоавтотрофных микроорганизмов при различных технологических условиях | 20 |
| 3.2. Требования к управлению процессом культивирования микроводорослей и цианобактерий | 22 |
| Глава 4. Подходы к математическому моделированию процессов культивирования микроводорослей и цианобактерий | 26 |
| 4.1. Кинетические модели роста | 26 |
| 4.1.1. Кинетические модели роста микроводорослей по одному субстрату | 27 |
| 4.1.2. Моделирование влияния температуры и распределения света | 34 |
| 4.1.3. Кинетические модели роста микроводорослей на нескольких субстратах | 48 |
| 4.2. Моделирование продуцирования липидов и углеводов микроводорослями | 53 |
| 4.3. Перспективные методы моделирования биохимических превращений в клетках | 57 |

| | |
|--|-----|
| Глава 5. Аппаратурно-технологическое оформление процесса культивирования биомассы | 63 |
| 5.1. Открытые системы для культивирования биомассы . . . | 63 |
| 5.2. Закрытые системы для культивирования | 66 |
| Глава 6. Стадии подготовки и переработки биомассы | 80 |
| 6.1. Концентрирование клеток биомассы микроводорослей и цианобактерий | 80 |
| 6.2. Извлечение ценных веществ из биомассы микроводо- рослей и цианобактерий | 82 |
| Заключение | 89 |
| Список литературы | 92 |
| Приложение А. Термины и определения | 115 |
| Приложение Б. Перечень сокращений и обозначений | 120 |

Учебное издание

ДВОРЕЦКИЙ Дмитрий Станиславович
ТЕМНОВ Михаил Сергеевич
УСТИНСКАЯ Яна Витальевна
ЕСЬКОВА Мария Александровна

ПЕРСПЕКТИВНЫЕ БИОТЕХНОЛОГИИ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ

Учебное пособие

Редактор Л. В. Комбарова
Компьютерное макетирование М. А. Евсейчевой

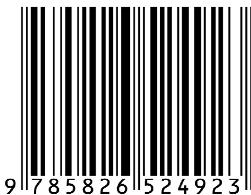
Подписано в печать 19.09.2022.

Выход в свет 08.11.2022.

Формат 60×84/16. 7,44 усл. печ. л.

Тираж 100 экз. Заказ № 34

ISBN 978-5-8265-2492-3



Издательский центр ФГБОУ ВО «ТГТУ»
392000, г. Тамбов, ул. Советская, д. 106, к. 14.
Тел. 8(4752) 63-81-08.

E-mail: izdatelstvo@tstu.ru.

Отпечатано в типографии ФГБОУ ВО «ТГТУ»
392008, г. Тамбов, ул. Мичуринская, д. 112А.
Тел. 8(4752) 63-07-46.

E-mail: tipo_tstu68@mail.ru