

UTILIZAREA METODEI DE CULTIVARE SEMICONTINUĂ A ALGEI *ANABAENOPSIS* SP. PE MEDIUL NUTRITIV Z-8

Galina DOBROJAN, Irina STRATULAT, Sergiu DOBROJAN

Universitatea de Stat a Moldovei

Cultivarea algei *Anabaenopsis* sp. pe mediul nutritiv Z-8 după metoda semicontinuă este mai eficientă, realizându-se mai rapid desfășurarea fazei exponențiale de creștere. Cea mai eficientă extragere și substituție a mediului nutritiv s-a dovedit a fi cea de 50%, care contribuie la obținerea a $9,3 \pm 0,850$ g/l de biomasă algală la a 9-a zi. Cele mai înalte valori ale vitezei specifice de creștere a biomasei algei *Anabaenopsis* sp. se atestă în loturile cu extragerea și substituția a 50% din mediul nutritiv atingând $0,999 \pm 0,049$ zile⁻¹, iar cele mai mici în loturile cu extragerea și substituția a 75%– $0,567 \pm 0,02$ zile⁻¹. pH-ul mediului nutritiv optim este situat între 9,543 și 10,646.

Cuvinte-cheie: *cultivare semicontinuă, productivitate algală, viteză de creștere, viteză de scurgere, coeficient de diluare.*

USING THE SEMICONTINUOUS METHOD OF CULTIVATION FOR ALGAE *ANABAENOPSIS* SP. ON NUTRITIVE MEDIUM Z-8

Growing the algae *Anabaenopsis* sp. on nutritive medium Z-8 after semi-continuous method of cultivation is more efficient, achieving more quickly the exponential phase of growth. The most efficient extraction and substitution of nutritive medium has proved to be the 50%, which contributes to obtain 9.3 ± 0.850 g/l of algal biomass at the 9th day. The highest values of specific growth rate of algal biomass *Anabaenopsis* sp. are attested in lots with the extraction and substitution of 50% and touching 0.999 ± 0.049 days⁻¹, and the lowest values in the 75%– 0.567 ± 0.02 days⁻¹. The optimum pH of nutritive medium is situated between 9.543 to 10.646.

Keywords: *semi-continuous cultivation, algal productivity, growth rate, rate of flow, the dilution factor.*

Introducere

Una dintre cele mai importante caracteristici ale algelor este posibilitatea de reproducere rapidă. Această proprietate se utilizează la obținerea biomasei algale, care este întrebuițată în alimentația umană și animală, farmaceutică, protecția mediului (epurarea apelor reziduale, fixarea CO₂), în agricultură etc. Pentru obținerea biomasei algale întrebuițate în vaste domenii și scopuri, algele trebuie cultivate. La ora actuală se cunosc mai multe metode de cultivare a algelor, cum ar fi: periodică, continuă, semicontinuă etc. Metodele periodice, clasice, de cultivare a algelor, nu permit utilizarea totală a potențialului de reproducere [7]. Pentru ridicarea intensității reproducerii algelor se consideră mai eficientă metoda de cultivare continuă. Primul model de cultivare continuă a fost inițiat de către A. Novick și L. Szilard [5], J. Monod [3]. Acest tip de cultivare prevede excluderea unui anumit volum de mediu și a unei cantități de biomasă și înlocuirea lor, astfel încât procesul să se desfășoare continuu. Începând cu a doua jumătate a secolului trecut, această metodă a căpătat o mare popularitate în lume, fiind descrisă și în lucrările savanților sovietici I.D. Ierusalimski, I. Malec etc. Cu toate că sistemele continue permit obținerea produselor omogene, ele de multe ori sunt ineficiente din punct de vedere economic sau tehnic [1]. Cultivarea semicontinuă prezintă un sistem mai viabil, deoarece periodic o parte din mediul de cultură este eliminat, iar restul este utilizat ca punct de plecare pentru continuarea culturii, asigurându-se astfel o cantitate de inocul mare la momentul adaosului mediului nou.

Utilizarea metodei semicontinue la cultivarea algei *Spirulina platensis*, cu extragerea a 50% din mediul nutritiv Zaruc, s-a dovedit a fi mai eficientă și permite obținerea unei cantități mai înalte de biomasă ($42,3$ mg/l/zi) și o majorare a vitezei specifice de creștere de 4 ori [6].

În experimentele anterior efectuate de noi a fost studiat procesul de creștere a algei *Anabaenopsis* sp. pe mediul Z-8 la cultivarea după metoda periodică. Cultivarea după această metodă asigură obținerea, la a 15-a zi, a $4,52 \pm 0,21$ g/l de biomasă algală, iar viteza de creștere, caracteristică fazei exponențiale, era situată între $0,027 \pm 0,001$ – $0,044 \pm 0,002$ zile⁻¹.

Pornind de la aceasta, ne-am propus drept scop să eficientizăm procesul de obținere a biomasei algale prin cultivarea algei *Anabaenopsis* sp. pe mediul nutritiv Z-8 conform metodei de cultivare semicontinuă.

Material și metode

Experimente de cultivare semicontinuă a algei *Anabaenopsis* sp. pe mediul lichid Z-8 [4,2] au fost efectuate în condiții de laborator la temperatura de 28-30°C și la intensitatea luminii de 4000 lucși, pe o perioadă de 9 zile. Cultivarea semicontinuă a fost realizată prin excluderea a 25%, 50% și 75% din mediul nutritiv peste un interval de 3 zile și prin înlocuirea cu mediul proaspăt pregătit. Alga a fost cultivată în baloane Erlenmeyer cu volum de 100 ml. În calitate de inocul s-a utilizat alga cultivată pe mediul lichid care se afla în faza exponențială de creștere. Densitatea culturii inoculate era de $1,306 \pm 0,017$ g/l, deoarece această cantitate este specifică începutului fazei exponențiale de creștere a algei *Anabaenopsis* sp. pe mediul dat, fapt stabilit la cultivarea anterioară după metoda periodică. Pe parcursul experimentelor au fost determinate: coeficientul de diluare (Θ), viteza de scurgere a mediului nutritiv (ω) și viteza specifică de creștere a culturii (μ) [9]. Productivitatea algală a fost stabilită prin diferența dintre masa filtrelor curate (prin care inițial se trece apa distilată) și masa filtrelor cu sedimentarea biomasei algale, efectuându-se calculul corespunzător în g/l [8]. Indicele pH-ului a fost determinat la aparatul multifuncțional „Consort” C-944. Calcularea matematică a rezultatelor obținute a fost efectuată utilizând programa computerizată „Microsoft Office 2007” cu determinarea erorii standard (m) și a mediei aritmetice (M).

Rezultate și discuții

Pornind de la faptul că alga *Anabaenopsis* sp. cantitativ ar trebui să se afle în faza exponențială de creștere, excluderea mediului nutritiv ar facilita acumularea biomasei algale, deoarece peste o perioadă de 3 zile, se asigură cu sursă nouă de substanțe nutritive, paralel fiind excluse și produsele metabolice eliminate în mediul nutritiv de către algă.

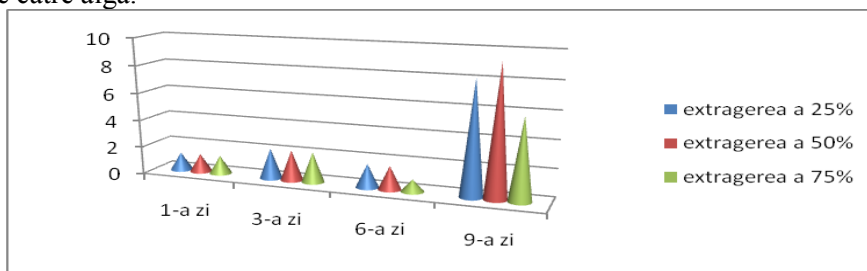


Fig.1. Productivitatea algei *Anabaenopsis* sp. cultivate după metoda semicontinuă pe mediul nutritiv Z-8.

Analiza cantitativă a biomasei algei *Anabaenopsis* sp. cultivate după metoda semicontinuă indică o sporire considerabilă a biomasei algale la extragerea a 50% din mediu care la a 9-a zi atingea $9,3 \pm 0,850$ g/l, fiind de 2,05 ori mai mare comparativ cu cultivarea periodică a algei pe o perioadă de 15 zile. Rezultate semnificative se obțin la extragerea a 25% din mediul nutritiv, ce permite obținerea a $8,173 \pm 0,816$ g/l de biomasă în decursul a 9 zile, iar extragerea a 75% din mediul nutritiv asigură obținerea a maximum $5,846 \pm 0,567$ g/l în aceeași perioadă. Pe parcursul experimentelor se observă oscilări, manifestate prin descreșterea urmată de creșterea cantitativă a biomasei algale.

Pentru evidențierea mai ușoară a legităților biologice, la cultivarea semicontinuă a algei *Anabaenopsis* sp. pe mediul Z-8, ne-am propus ca rezultatele cantitative ale biomasei să le introducem într-un tabel de evidență (Tab.1).

Tabelul 1

Evidențierea legității biologice la cultivarea semicontinuă a algei *Anabaenopsis* sp. pe mediul nutritiv Z-8

Zilele de monitoring	Concentrația mediului extras (%)		
	25	50	75
3	+	+	+
6	-	-	-
9	+	+	+
În total	3	3	3

Notă: „+” – creșterea biomasei algale; „-” – reducerea biomasei algale.

După cum observăm, la a 3-a zi se atestă creșterea biomasei algale, ceea ce indică la faptul că s-a inițiat practic faza exponențială, dacă s-ar realiza în continuare cultivarea periodică. Începând cu a 3-a zi, a demarat cultivarea semicontinuă, s-a efectuat prima excludere a mediului nutritiv și înlocuirea cu mediul proaspăt, ceea ce a condus la apariția fazei lag, caracteristică metodei periodice; altfel spus, alga s-a acomodat la condițiile noi induse și, ca rezultat, se reduce biomasa în toate probele examinate. Începând cu a 6-a zi, alga era deja acomodată cultivării date și aceasta contribuie la creștere accelerată a biomasei algale care s-a înregistrat și la a 9-a zi de cultivare (Tab.1).

După cum am menționat, în procesul cultivării semicontinue se analizează modificările coeficientului de diluare, ale vitezei de scurgere a mediului și ale vitezei specifice de creștere (Tab.2).

Tabelul 2

Valorile indicilor de creștere la cultivarea semicontinuă a algei *Anabaenopsis* sp. pe mediul nutritiv Z-8

Perioada analizată, zile	Cantitatea de mediu nutritiv extras și substituit								
	25%			50%			75%		
	θ M±m	ω M±m	μ M±m	θ M±m	ω M±m	μ M±m	θ M±m	ω M±m	μ M±m
3	1,333±0,051	0,125±0,005	0,443±0,019	2±0,09	0,250±0,01	0,443±0,019	4±0,2	0,375±0,018	0,443±0,019
6	1,333±0,054	0,083±0,004	0,078±0,004	2±0,08	0,166±0,008	0,077±0,003	4±0,19	0,250±0,012	-0,086±0,004
9	1,333±0,060	0,083±0,004	0,858±0,041	2±0,09	0,166±0,008	0,999±0,049	4±0,18	0,250±0,013	0,567±0,02

Rezultatele obținute denotă că coeficientul de diluare (θ) rămâne practic neschimbat, ceea ce indică la faptul că extragerea cantitativă a mediului nutritiv este efectuată corect. Viteza de scurgere a mediului este în descreștere. Astfel, se observă că cu cât mai mare este diferența dintre coeficientul de diluare și viteza de creștere cu atât mai înaltă este productivitatea algală. Viteza specifică de creștere a algei *Anabaenopsis* sp. se reduce la a 6-a zi în toate loturile experimentale. Cea mai redusă viteză de creștere s-a observat în variantele cu extragerea a 75% din mediu ($-0,086\pm 0,004$ zile⁻¹), în loturile cu extragerea a 50% și 25% din mediu; viteza de creștere s-a redus, practic, în aceeași măsură ($0,077-0,078$ zile⁻¹). La a 9-a zi valorile vitezei specifice de creștere au sporit în toate loturile experimentale; cele mai înalte rezultate s-au atestat în proba cu 50% atingând $0,999\pm 0,049$ zile⁻¹, iar cele mai mici în cea de 75% – $0,567\pm 0,02$ zile⁻¹. Valorile pH-ului în toate probele experimentate au tendința de creștere (Fig.2).

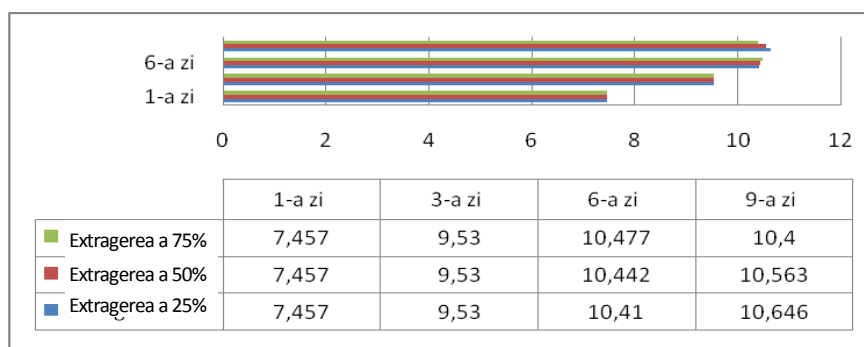


Fig. 2. Modificările pH-ului mediului nutritiv la cultivarea semicontinuă a algei *Anabaenopsis* sp.

În linii generale, putem constata că valorile pH-ului nu diferă în funcție de cantitățile mediului nutritiv extrase, variațiile lui fiind cuprinse între 0,06-0,24 unități, ce pot fi considerate neesențiale.

Concluzii

1. Metoda cultivării semicontinue a algei *Anabaenopsis* sp. pe mediul nutritiv Z-8 permite obținerea unei cantități mai înalte de biomasă într-un interval mai redus.

2. Cea mai înaltă cantitate de biomasă se obține la extragerea și înlocuirea ulterioară a 50% din biomasă peste un interval de 3 zile.

3. Valorile vitezei specifice de creștere sunt mai înalte în proba cu extragerea și înlocuirea ulterioară a 50% din mediul nutritiv, ceea ce indică la faptul că reproducerea celulelor algale este mai intensă, iar cele mai mici s-au atestat în varianta cu extragerea și înlocuirea ulterioară a 75% din mediul nutritiv.

4. Valorile pH-ului mediului nutritiv nu diferă în funcție de cantitățile de mediu nutritiv extrase.

Bibliografie:

1. DONATI, G., PALUDETTO, R. Batch and Semibatch Catalytic Reactors (from Theory to Practice). In: *Catalysis Today*, 1999, vol.52, p.183-195.
2. KOTAI, J. Instructions for preparation of modified nutrients solution Z-8 for algae. In: *B-11/69*, 1972, p.5.
3. MONOD, J. La technique de culture continue, theorie et applications. In: *Annales Institute Pasteur*, 1950, no.79, p.390-410.
4. NIV, A. Estimation of algal growth potential. In: *D2-25*, 1976, p.33.
5. NOVICK, A., SZILARD, L. Experiments with the chemostat on spontaneous mutations of bacteria. In: *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 1950, no.36, p.708-719.
6. REICHERT, C., REINEHR, C., COSTA, J. Semicontinuous cultivation of the cyanobacterium *Spirulina platensis* in a closed photobioreactor. In: *Brazilian Journal of Chemical Engineering*, 2006, vol.23, no.01, p.23-28.
7. КОКОВА, В.Е., ЛИСОВСКИЙ, Г.М. *Непропорционально-проточная культура простейших*. Новосибирск: Наука, 1976, с.74.
8. ЛЕВИЧ, А.П. *Искусство и метод моделирования систем*. Москва: Ижевск, 2012, с.728.
9. ТРЕНКЕНШУ, Р.П. Простейшие модели роста микроводорослей 2: квазинепрерывная культура. В: *Экология моря*, 2005, вып.67, с.98-110.

Notă: Rezultatele au fost obținute în cadrul Proiectului pentru tineri cercetători 12.819.18.11A „Elaborarea tehnologiei de cultivare a algei cianofite fixatoare de azot *Anabaenopsis* sp. pentru obținerea biomasei de fertilizant biologic”.

Prezentat la 12.01.2013