

УДК 573.6.086.83

К вопросу о путях повышения эффективности наземных открытых систем культивирования микроводорослей

Елена Михайловна Онищенко

Днепропетровский государственный аграрно-экономический университет

Обсуждается потенциал использования зеленых микроводорослей в сельском хозяйстве. Для эффективного внедрения технологий направленного производства необходимо разработать методы высокопроизводительного культивирования в условиях естественного солнечного освещения. В статье сравнивается эффективность конверсии света при двух различных способах культивирования хлореллы в условиях, имитирующих плотность солнечной энергии, характерную для климатометеорологических условий средних широт.

Ключевые слова: микроводоросли, промышленное культивирование, эффективность конверсии света, фотобиореактор.

To the question of enhancing of productivity for flat open systems for microalgae culturing

E. Onyshchenko

In our research we identify the ways to enhance industrial productivity of green microalgae culturing in open pond systems. For effective large - scale implementation of controlled culturing, technologies providing high productive growth in conditions of natural light irradiation are required.

Light conversion efficiency with two different culturing methods for *Chlorella* in conditions duplicating light energy density, typical for middle latitude meteorological conditions is compared.

Key words: microalgae, large-scale culturing technology, light conversion, photobioreactor.

Введение

Микроводоросли культивируют для получения высокоценных продуктов, таких как, биологически активные добавки, пигменты, высокоценные белки, для получения возобновляемых энергоносителей, очистки хозяйственных и бытовых сточных вод [8].

На данном этапе развития направления предложено множество техник и технологий культивирования, все они могут быть разделены на две большие группы: технологии с использованием наземных открытых систем культивирования (прудов), обеспечиваемых солнечной световой энергией и технологии культивирования с использованием закрытых культиваторов, где процесс выращивания обеспечивается за счет искусственного освещения, реже за счет естественного [6].

В промышленном масштабе культивирование осуществляется в основном в наземных открытых системах с использованием солнечной энергии [8]. Использование закрытых фотобиореакторов требует очень высоких капитальных затрат и является менее эффективным с экономической точки зрения [10].

Несмотря на значительные объемы инвестиций в отрасли и большое количество реализованных научно-исследовательских и опытно-конструкторских и пилотных проектов, не удалось выработать универсального решения, приемлемого для коммерциализации, поскольку прогнозируемые экономические показатели не являются конкурентоспособными на рынке традиционных энергоносителей [10].

Одним из основных путей оптимизации существующих систем для достижения выше указанных целей является увеличений эффективности конверсии света в наземных открытых системах культивирования [8, 9, 10].

Цель исследования

Целью данного исследования является поиск способов оптимального светообеспечения культуры для разработки более эффективных технологий культивирования при которых происходило бы повышение конверсии световой энергии и повышение общей эффективности работы систем для культивирования, а соответственно достижение уровня эффективности, при котором эксплуатация

систем имела бы потенциал внедрения в условиях средних широт.

Теоретические основы повышения эффективности культивирования микроводорослей

Если детально рассмотреть процесс трансформации солнечной энергии, преобразование потока выглядит следующим образом;

Для солнечных регионов валовая обеспеченность световой энергией достигает 7 - 9 кВт на метр квадратный в сутки, что эквивалентно 24 - 40 МДж на метр квадратный в сутки [8].

Доля фотосинтетически активной радиации (ФАР), которую растения способны использовать для осуществления фотосинтеза, составляет, в среднем, 45 % от общей поступающей солнечной энергии. Таким образом на осуществление фотосинтеза может быть использовано 11,25 – 18 МДж на метр квадратный в сутки [8].

Поскольку поверхность открытых наземных систем культивирования (пруды) расположена строго горизонтально к земной поверхности, а световой поток не является строго перпендикулярным к земной поверхности, по оценкам специалистов вследствие несовершенства геометрии конструкций теряется порядка 10 % полезной солнечной радиации [8], что выражается в 10,1–16,2 МДж на метр квадратный в сутки.

Согласно техническим данным, конверсия внутри самих наземных открытых систем, как следствие “самозатемнения”, составляет в среднем 50 % [8] т. е. только 5–8,1 МДж световой энергии в наземных открытых системах доставляется непосредственно к клеткам для обеспечения фотосинтеза.

На уровне растительной клетки средняя эффективность фотосинтеза, согласно общепринятым выводам фундаментальных исследований, составляет 37 – 40 % [7]. Т. о. только 1,8–3 МДж на метр квадратный в день фиксируется в виде высокоэнергетических связей в составе вновь образованной биомассы.

Часть запасенной энергии в культуре микроводорослей расходуется на респирацию в темное время [5]. Согласно данным различных исследователей затраты на поддержание метаболизма клеток в темное время составляют 11 – 89%, если взять за основу среднее значение 50 %, т. о. “чистый выход” аккумулированной энергии составит 0,9 – 1,5 МДж на метр квадратный в день, что составляет чуть более 3 %. Полученное значение хорошо согласуется с реальными данными, согласно доступным техническим отчетам, существующие открытые наземные системы имеют общую эффективность порядка 3 - 5 % [8].

Джон Брюней, осуществивший первый полномасштабный пилотный проект по эксплуатации открытых наземных систем для культивирования хлореллы в 50х – 60х годах, пришел к этим показателям в ходе своих исследований с естественным

освещением, однако отметил, что при снижении средней освещенности в половину ему удалось добиться 6 %.

В тоже время ряд исследователей приводит данные полученные в лабораторных условиях, согласно которым средняя эффективность конверсии световой энергии может достигать 22% — 30 % [9].

Существует несколько моделей расчета оптимального освещения для культуры, однако, для расчета освещения в культурах высокой плотности наиболее адекватным является модификация уравнения Моно. Зависимость между скоростью первичного продуцирования и освещенностью может быть описана уравнением

$$\mu = \mu_{\max} I \cdot (I + I_s)^{-1}$$

где μ_{\max} – максимальный коэффициент скорости роста культуры, I – фактический уровень освещенности культуры, I_s - константа полунасыщения культуры по свету (определяется экспериментальным путем для каждого отдельно взятого штамма и условий культивирования) [6].

Согласно основной концепции исследований, посвященных эффективности световой конверсии при светозависимом росте культуры потребность культуры в свете должна совпадать с величиной потока для обеспечения максимального уровня конверсии.

Другая широко используемая группа моделей, также показывающая “насыщение” скорости фотосинтеза при высоких интенсивностях потока, основана на экспоненциальной зависимости.

Зависимость коэффициента скорости роста культуры от интенсивности освещения выражается следующим уравнением

$$\mu = \mu_{\max} (I \cdot I_0^{-1}) \cdot e^{(1-I \cdot I_0^{-1})}$$

где I – данный уровень освещения культуры, I_0 – оптимальный уровень освещения культуры [2].

Как показали результаты работ в данном направлении методы культивирования, применяемые при изучении световых закономерностей роста микроводорослей, также имели важное значение. Так как по мере экспоненциального роста культуры абсолютное количество пигментов в клетках растет, увеличивается и общее поглощение света культурой.

Скорость роста клеток при средней облученности клеток \tilde{E} и поверхностной облученности культуры E_0 хорошо описывается эмпирическим уравнением

$$\mu_m = K \cdot \beta \cdot (E_0 + q)^{-1} \cdot E - P_k \cdot \beta,$$

где $K = 8,47 \cdot 10^{12}$, $q = 2,47 \cdot 10^5$ – константы, определенные экспериментально; β – содержание хлорофилла в клеточной биомассе, P_k – скорость дыхания.

Доказано, что культуры микроводорослей способны эффективно использовать свет высоких интенсивностей в диапазоне ФАР с высокой конверсией, но при условии наличия неорганического источника углерода и основных биогенных компонентов в достаточном количестве [1].

Зарубежными исследователями предложен ряд аналогичных, простых моделей, описывающих светозависимый рост культур микроводорослей, все они сводятся к прямой зависимости между концентрацией биомассы и оптимальным световым потоком, как изменяющихся во времени параметров [9].

Все вышеперечисленные и аналогичные модели учитывают лишь изменение потребности культуры в световой энергии во времени.

Ряд исследователей свел понятие потребности культуры, для которого отсутствует общепринятое научное определение, к понятию клеточной квоты, которая может быть определена для всех факторов роста культуры в т. ч. и для световой энергии [4].

Потребностью клетки в некотором веществе можно считать его содержание в единице биомассы или в одной клетке. Эту величину называют также внутриклеточной концентрацией вещества, или клеточной квотой т. е. количество субстрата, необходимое для наращивания единицы клеточной биомассы [4, 8].

Если для минеральных и органических факторов роста эта величина может определена легко, то для световой энергии данный подход вызывает ряд сложностей, поскольку сама цепочка фотосинтетического преобразования энергии внутри клетки довольно сложна и эффективность преобразования энергии внутри клетки варьирует в широких пределах.

Учитывая сложность и многоуровневость преобразования энергии в системе внешняя среда – культура микроводорослей эффективным для прикладных целей может быть лишь некое интегральное математическое выражение, которая позволяет с достаточной точностью производить расчеты, пренебрегая второстепенными факторами.

Целый ряд исследователей, использующих в своих работах другой подход, приводит значения оптимальной освещенности для различных культур микроводорослей, полученные в лабораторных условиях опираясь на скорость роста, как на основной показатель благоприятности условий роста для культуры.

На сегодняшний день существует множество эмпирических данных, для различных видов и условий культивирования. Данные для хлорококковых микроводорослей обобщены в ряде работ [8].

Исходя из данных графика с небольшой ошибкой можно считать, что в поверхностном 10 сантиметровом слое культуры, где эффектами самозатенения в культуре можно пренебречь, оптимальны для процесса культивирования значения средней освещенности клетки а пределах $400 - 800 \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ (Рис. 1).

Рис.1 - Зависимость условий освещенности от глубины в соответствии с требованиями культуры к обеспеченности световой энергией

Однако исследователи никак не связывают эти значения с плотностью культуры, интенсивностью фотосинтеза и прочими условиями при которых эти данные получены либо могут быть эффективно применены.

Более практичный подход выработан исследователями, работавшими над созданием продуктивных систем выращивания культур высокой плотности в рамках программ создания замкнутых экосистем для длительных космических полетов.

Исследователи рассматривали преобразование в системе источник света – культура микроводорослей, обосновав сложную модель светозависимого роста, учитывающую множество факторов для которой, однако, также предложен ряд простых математических выражений, описывающий эффективность трансформации энергии в системе.

Одной из наиболее существенных характеристик фотобиореактора предложено считать энергетический выход

$$W_E = W/E$$

где W – производительность фотобиореактора в пересчете на энергетическую ценность полученной биомассы, E – суммарная электрическая мощность фотобиореактора.

Энергетический выход определяется экономичностью фотобиореактора, что в свою очередь зависит от типа и геометрии расположения источников света [2].

Коэффициент полезного действия светозависимого роста (эффективность конверсии) выражается уравнением

$$\eta = Q \times (E_0 \times T)^{-1} \cdot \mu_m \times x$$

где Q - калорийность полученной биомассы, E_0 – освещенность культуры, μ_m – максимальный коэффициент скорости роста, T – нормирующий множитель, x – значение суммарного количества биомассы в суспензии [4].

Из вышеизложенного следует, что монокультура микроводорослей является сложной системой, обладающих множеством характеристик и состоящей из большого количества отдельных элементов (клеток), находящихся в сложном взаимодействии с внешней средой. Следовательно, модели, которые могли бы описать все процессы светозависимого роста будут довольно сложными. Для практических целей исследователи используют сравнительно простые оптические модели различных модификаций суть которых сводится к зависимости потребности световой энергии от концентрации культуры, индивидуальных оптических характеристик суспензии микроводорослей и скорости роста

биомассы, которая в свою очередь, близка к максимальной при постоянной удельной обеспеченности световой энергией в рамках оптимума на единицу массы.

Обобщая данные практических и теоретических исследований в данном направлении, можно сделать вывод, что стабилизация числа клеток в непрерывной асинхронной культуре приводит к повышению поглощения света культурой, что снижает среднюю пространственную освещенность клеток в слое суспензии и снимет эффект фотоингибирования. В данном случае имеет место световая зависимость роста и фотосинтеза с широким плато.

Если использовать метод основанный на стабилизации оптической плотности можно предположить, что плато у таких культур отсутствует.

Для наземных открытых систем культивирования исследование путей повышения эффективности является комплексной задачей, которая включает в себя определение зависимости плотности культуры, параметров культивирования и прочих условий, поддающихся управлению, от условий распределения и интенсивности потока солнечной энергии.

Объекты и методы исследования

Целью данного исследования было изучение уровней конверсии световой энергии при обычной накопительной монокультуре *Chlorella vulgaris*, которая в условиях фотобиореактора имитирует прудовое культивирование т. е. происходит увеличение плотности культуры вследствие экспоненциального роста количества клеток и при культивировании по принципу хемиостата, где происходит постоянное поддержание всех факторов роста, включая световую энергию на постоянном уровне.

Для наших исследований был разработан фотобиореактор специальной конструкции, состоящий из 6 стеклянных камер, толщиной 10 см, внутренние стенки которых образуют правильный гексагон. В центре гексагона находится газоразрядная натриевая лампа “Planstar - T” Osram для теплиц и люминариив, номинальной мощностью 400 Вт (Рис. 2).

Рис. 2 - Фотобиореактор в сборке

Лампа обеспечивает стабильный световой поток фотосинтетически активной радиации на внутреннюю стенку каждой секции в эквиваленте 1708 мкмоль на метр квадратный в секунду, что соответствует уровню инсоляции 11 КВт в день, таким образом в фотобиореакторе имитируются условия освещенности открытого наземного культиватора в условиях регионов хорошо обеспеченных солнечной энергией.

При культивировании в фотобиореакторе данное условие обеспечивалось путем постоянного добавления питательной среды, таким образом концентрация клеток оставалась постоянной. На освещенной стенке фотобиореактора были установлены темные экраны, которые все время перемещались на уровень заполнения камеры после каждого добавления питательной среды и, таким образом, концентрация клеток и удельная освещенность на единицу плотности культуры оставалась постоянной.

Для эксперимента была выбрана культура одноклеточной зеленой водоросли *Chlorella vulgaris*, которая культивировалась на минеральной питательной среде ВЗ, которая имела следующий состав: 17.6 мМ NaNO₃; 0.22 мМ K₂HPO₄; 0.03 мМ MgSO₄×7H₂O; 0.2 мМ CaCl₂×2H₂O; 0.02 мМ железа лимонно-аммиачного коричневого; 0.002 мМ Na₂EDTA×2H₂O; 0.18 мМ Na₂CO₃. Микроэлементы в среду дополнительно не вводили т. к. для приготовления среды использовалась водопроводная вода содержащая достаточное количество микроэлементов. Каждая порция питательной среды стерилизовалась с помощью ультрафиолетовой лампы перед использованием.

В ходе эксперимента были заложены два параллельных опыта – в четырех камерах (№ 1, 5, 6, 7) производилось накопительное культивирование со стартовой концентрацией и в четырех камерах (№ 2, 3, 4, 8) культивирование выполняли по типу хемиостата. Каждые полтора – два часа производился долив питательной среды и темный экран перемещался на новый уровень, реальная высота освещенной поверхности замерялась для последующего расчета освещенной площади.

При этом для камер (№ 1, № 2, № 3 и № 5) интенсивность освещения была снижена в половину с помощью гелевых пленок Neutral spot density 0,6 производства фирмы Kodak, которые блокируют 50 % света всего видимого спектра, т. о. была установлена плотность излучения 854 мкмоль на метр квадратный в секунду. Реальные значения освещенности внутри камер проверяли с помощью актинометра перед началом эксперимента в соответствии с общепринятыми методиками [10].

Таким образом культивирование производилось при избыточной и оптимальной освещенности.

В качестве источника углерода использовали чистый диоксид углерода, который подавали из баллона и распыляли в суспензию через титановую губку, значение рН поддерживалось на уровне 6,7 – 6,9, что соответствовало концентрации растворенного CO₂ 12 – 25 мг/л.

Пробы для определения концентрации биомассы в суспензии отбирали два раза в сутки. Каждую пробу объемом 20 мл фильтровали через нитроцеллюлозный

фильтр и после высушивания при температуре 105 °С в течение суток определяли массу твердого вещества на фильтре.

Коэффициент конверсии световой энергии определяли, как отношение затраченной световой энергии к энергетической ценности прироста суммарной биомассы в процентах. Поскольку для культур *Chlorella spp.* значение содержания углерода в сухой биомассе является величиной стабильной [9], и по количеству фиксированного углерода можно высчитать с достаточно низкой погрешностью энергетическую ценность биомассы, мы использовали эти значения для оценки степени конверсии [2].

Результаты исследования и их обсуждение

Для значений клеточной плотности культуры наблюдались более высокие скорости прироста, чем для биомассы, что объясняется более высокой и непостоянной скоростью деления клеток относительно скорости прироста валовой биомассы, что характерно для всех культур низших автотрофов, как наглядно демонстрируют экспоненциальные кривые роста (Рис. 3).

Рисунок 3 Динамика изменения валовой биомассы для каждой культивационной камеры во времени

Коэффициент корреляции между динамикой клеточной биомассы и плотностью клеток колебался от 0,96 до 0,98.

Для сопоставления данных о росте потока световой энергии и объема культивирования, а также самой динамики роста культур, были взяты коэффициенты экспоненциальной скорости изменения указанных величин (табл. 1).

Таблица 1 - Параметры продуктивности культуры полученные в ходе эксперимента

№	Уравнение описывающее динамику роста культуры	Плотность освещения, мкмоль квантов на метр квадратный в секунду	Начальный объем культуральной суспензии, мл	Валовый прирост биомассы в камере за весь период культивирования, г	Общее время культивирования, мин	Конечный объем культуральной суспензии, мл	Калорийность полученной биомассы, джоуль на грамм	Валовая световая энергия, полученная биомассой на протяжении всего цикла культивирования, джоуль	Конверсия световой энергии, %
1	$Y(x) = 0.178 \times \exp(0.050 \times x)$	854	2250	0,119	27,7	2250	11055 ± 25	21465	0,6
2	$Y(x) = 0.325 \times \exp(0.042 \times x)$	854	1700	0,495	25,2	1700	11055 ± 25	20316	26,9
3	$Y(x) = 0.139 \times \exp(0.046 \times x)$	854	750	0,161	27,4	2000	11055 ± 25	117202	1,5
4	$Y(x) = 0.750 \times \exp(0.033 \times x)$	1708	700	5,932	24,7	3450	11055 ± 25	230344	28,4
5	$Y(x) = 0.478 \times \exp(0.02 \times x)$	854	3500	0,244	20,7	3500	11055 ± 25	87941	3,1
6	$Y(x) = 0.36 \times \exp(0.053 \times x)$	1708	2500	1,78	69,5	2500	11055 ± 25	655528	3,0
7	$Y(x) = 0.054 \times \exp(0.042 \times x)$	1708	700	0,968	20,8	3430	11055 ± 25	345772 8	0,3
8	$Y(x) = 0.672 \times \exp(0.042 \times x)$	1708	450	5,438	69,5	1050	11055	405058	14,8

							± 25		
--	--	--	--	--	--	--	------	--	--

В камерах № 2 и № 4, где скорости разбавления и роста площади освещенности максимально соответствовали скорости роста культуры коэффициенты конверсии были максимальным, для камер, средние значения за весь период культивирования составляли 26,9 % и 28,4 % соответственно, для накопительных культур максимальные коэффициенты конверсии составляли 1,3 % и 0,1 %.

Анализ результатов эксперимента наглядно показал, что в камерах, где использовалась светоблокирующая пленка коэффициенты конверсии оказались выше как в случае культуры с постоянной плотностью клеток, так и в случае накопительной при незначительных отличиях значений суммарной стартовой биомассы, таким образом условия освещения при частичном блокировании света оказались более оптимальными.

Полученные данные позволяют сделать вывод, что при условии использования естественного освещения в открытых наземных культиваторах (прудах), эффективность конверсии солнечной энергии может быть увеличена при условии поддержания стабильного соотношения плотности светового потока и плотности клеток в монокультуре микроводорослей, что доказывает возможность постоянного удерживания культуры в экспоненциальной фазе роста.

Для инженерных и прикладных целей эти критерии должны быть заложены в качестве основных технических требований для создания модифицированных конструкций прудов с повышенными характеристиками удельной продуктивности.

Принято считать, что в качестве проектных параметров в большинстве систем необходимо закладывать требование в высокой обеспеченности световой энергией т. к. считается, что процесс культивирования может иметь более высокие показатели конверсии, однако при высоких плотностях освещения требуется поддержание высокой плотности культуры, что требует высокой скорости подачи источника углерода и высокой интенсивности перемешивания, а это тяжело реализуется на практике, следовательно, общая конверсия энергии в системе становится ниже. В тоже время, как показывают данные эксперимента, при поддержании стабильной удельной обеспеченности энергией культуры по мере роста и стабильном разбавлении, уровень конверсии световой энергии не различается существенно при поддержании высоких плотностей и высокой интенсивности освещения и более низкой плотности культуры и интенсивности освещения соответствующей таковой. Данные результаты, по нашему мнению, свидетельствуют о целесообразности более глубокого изучения вопроса о применении полномасштабных систем культивирования в средних широтах при условии выработки определенных инженерных решений, при которых плотность культуры в процессе выращивания являлось бы константой, а переменными

величинами являлись бы объем и площадь системы.

Выводы

1. Изучение уровней эффективности конверсии лучистой энергии в диапазонах интенсивностей характерных для средних широт при культивировании микроводорослей показало необходимость применения таких техник культивирования, при которых на всех этапах роста культуры поток световой энергии максимально соответствует потребностям культуры.

2. При нахождении оптимальных параметров выращивания, возможно достижение высокопродуктивного процесса выращивания даже в условиях средней обеспеченности солнечной энергией.

Список литературы

1. Анисимов О. Л., Филипповский Ю. Н., Скотников Г. С. Фотоэнергетические характеристик биосинтеза хлореллы в опытно-промышленных культиваторах // Микробиологический синтез. Москва. – 1978. № 8. – С. 33–35.
2. Белянин В. Н. Светозависимый рост низших фототрофов (в управляемых условиях). Новосибирск. Наука. – 1984. – С. 33 — 84.
3. Вопросы управления биосинтезом низших растений. Под ред. Терехов И. А. – Новосибирск. – 1982. – С. 45—78.
4. Материалы рабочего совещания по вопросу круговорота веществ в замкнутой системе на основе жизнедеятельности низших организмов. Киев. – 1968. – 113 с.
5. Шлегель Г. Общая микробиология. М.: Мир. – 1987. – 357 с.
6. Andersen R. A. (ed.) Algal Culturing Techniques. Burlington. – 2005. P. – 34-78.

7. Goldman J. Outdoor algal mass cultures—II. Photosynthetic yield limitations // *Water Res.* Vol. 13, 1979. P.119-131.
8. Javanmardian M. High-density photoautotrophic algal cultures: design, construction, and operation of a novel photobioreactor system / M. Javanmardian, B. Palsson // *Biotechnology & Bioengineering.* Vol. 38. 1991. P. – 1182-1188.
9. Mandalam R. Elemental balancing of biomass and medium composition enhances growth capacity in high-density *Chlorella vulgaris* cultures / R. Mandalam, B. Palsson // *Biotechnol. Bioeng.* Vol 59 (5). – 1998. P. – 605 – 611.
10. Ogbonna C. Kinetic study on light-limited batch cultivation of photosynthetic cells / C. Ogbonna, H. Yada, H. Tanaka // *Ferment. Bioeng.* Vol. 80. 1995. P. – 259 – 264.

Spisok literatury

1. Anisimov O. L., Filippovskij Yu. N., Skotnikov G. S. Fotoe'nergeticheskie xarakteristik biosinteza xlorelly v opytно-promyshlennyx kul'tivatorax // *Mikrobiologicheskij sintez.* Moskva, 1978. № 8. – S. 33–35.
2. Belyanin V. N. Svetozavisimyj rost nizshix fototrofov (v upravlyaemyx usloviyax). Novosibirsk. Nauka, 1984. S. – 33 — 84.
3. Voprosy upravleniya biosintezom nizshix rastenij. Pod red. Terekov I. A. – Novosibirsk. 1982. S. – 45—78.
4. Materialy rabocheho soveshchaniya po voprosu krugovorota veshhestv v zamknutoj sisteme na osnove zhiznedeyatel'nosti nizshix organizmov. Kiev. 1968. 113 s.
5. Shlegel' G. Obshhaya mikrobiologiya. M.: Mir. – 1987. – 357 c.

6. Andersen R. A. (ed.) *Algal Culturing Techniques*. Burlington. – 2005. P. 34-78.
7. Goldman J. Outdoor algal mass cultures—II. Photosynthetic yield limitations // *Water Res.* Vol. 13, 1979. – P. 119-131.
8. Javanmardian M. High-density photoautotrophic algal cultures: design, construction, and operation of a novel photobioreactor system / M. Javanmardian, B. Palsson // *Biotechnology & Bioengineering*. Vol. 38. 1991. – P. 1182-1188.
9. Mandalam R. Elemental balancing of biomass and medium composition enhances growth capacity in high-density *Chlorella vulgaris* cultures / R. Mandalam, B. Palsson // *Biotechnol. Bioeng.* Vol 59 (5). – 1998. – P. 605 – 611.
10. Ogbonna C. Kinetic study on light-limited batch cultivation of photosynthetic cells / C. Ogbonna, H. Yada, H. Tanaka // *Ferment. Bioeng.* Vol. 80. 1995. – P. 259 – 264.