

НЕКОММЕРЧЕСКОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ АЛЬГОБИОТЕХНОЛОГИИ  
(НУ НИИ Альгобиотехнологии)

**ТЕХНОЛОГИЧЕСКАЯ ИНСТРУКЦИЯ**  
НА ПРОИЗВОДСТВО  
**КОРМА - «СУСПЕНЗИЯ ХЛОРЕЛЛЫ»**

Пенза 2004

НЕКОММЕРЧЕСКОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ  
НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ АЛЬГОБИОТЕХНОЛОГИИ  
(НУ НИИ Альгобиотехнологии)

ОКП 91 8400

Группа С28  
(ОКС 67.120.30)

УТВЕРЖДАЮ

Директор НУ НИИ Альгобиотехнологии  
\_\_\_\_\_ Н.И.Богданов  
личная подпись

16.03.2004 г.

**ТЕХНОЛОГИЧЕСКАЯ ИНСТРУКЦИЯ**  
НА ПРОИЗВОДСТВО  
**КОРМА - «СУСПЕНЗИЯ ХЛОРЕЛЛЫ»**

**Дата введения в действие – 15.04.2004 г.**

**РАЗРАБОТАНО**

**НУ НИИ АЛЬГОБИОТЕХНОЛОГИИ**

р.п. Лунино  
Лунинский район  
Пензенской обл.  
2004

## ВВЕДЕНИЕ

Хлорелла – представитель зеленых водорослей – микроскопических водных растений.

Для приготовления корма – «суспензии хлореллы» (далее – суспензия хлореллы), используются планктонные штаммы *Chlorella vulgaris*. Они отличаются высокой степенью использования световой энергии (КПД фотосинтетически активной радиации 3,6%) и химическим составом клетки по содержанию белков, незаменимых аминокислот, витаминов, набору микроэлементов и биологически активным веществам, с которыми не могут сравниться не только водные, но и наземные растения.

Разработана оригинальная технология культивирования хлореллы, учитывающая биологию и морфологические особенности вида.

Для получения суспензии хлореллы используются планктонные штаммы. Преимуществом планктонной формы хлореллы является исключительная приспособленность к условиям аквакультуры. Культура хлореллы не требовательна к углекислому газу, поэтому насыщение им идет биологическим путем в отличие от использования баллонной углекислоты. Планктонные свойства штамма (свободное парение и равномерное распределение в водной толще) позволяют отказаться от механического перемешивания суспензии.

Для получения суспензии хлореллы используется минимальное количество химических реактивов, энергетических средств, полностью предотвращается загрязнение среды, а получаемая продукция является экологически чистой.

Производство суспензии хлореллы не имеет отходов, так как вся произведенная продукция используется в корм животным.

Высокая биологическая активность планктонных штаммов дает возможность сократить дозировки и сроки выпаивания животным суспензии хлореллы. Эффект последствия позволяет достигнуть высокие темпы роста и сохранности поголовья на весь период откорма.

Суспензия хлореллы является уникальным кормом, не требующим больших трудозатрат и специальной подготовки персонала.

Перечисленные свойства штамма позволили создать принципиально новую конструкцию установки для выращивания хлореллы, которая может работать круглый год.

На сегодняшний день с хлореллой по получаемой продуктивности и сохранности поголовья животных, простоте использования и обслуживания, экономической эффективности никто не может конкурировать не только в России, но и за ее пределами.

Использование суспензии хлореллы в кормовом рационе сельскохозяйственных животных позволяет получать дополнительные привесы до 40% и довести сохранность поголовья до 99%. Это достигается благодаря тому, что хлорелла является уникальным биологическим природным продуктом. Ни одно другое, водное или наземное растение не обладает таким количеством полезных свойств, какими наделена хлорелла.

### **1 Область применения**

Настоящая технологическая инструкция распространяется на корм - «суспензия хлореллы» (далее – суспензия хлореллы), вырабатываемую с использованием штамма *Chlorella vulgaris* BIN, предназначенную для выпаивания животным и получения дополнительной мясной и молочной продуктивности, сохранности молодняка, повышения общей резистентности, репродуктивности и стимуляции обменных процессов сельскохозяйственных животных (крупный рогатый скот, свиньи, пушные звери, птица, рыба, тутовый шелкопряд, пчелы).

## 2 Питательная среда

Состав питательной среды предельно простой. В её состав входят удобрения, широко используемые в сельском хозяйстве и не дефицитные реактивы. Однако ни один из приведенных в рецепте удобрений или реактивов замене не подлежит. В противном случае, характеристики полученной продукции не будут соответствовать требованиям, предъявляемым к ним.

Питательная среда готовится с соблюдением очередности внесения реактивов. После введения каждого реактива питательная среда тщательно перемешивается.

После приготовления питательной среды (до добавления раствора углекислого газа) в растворе не должно быть хлопьев, осадка или опалесценции. При появлении этих признаков приготовленная питательная среда выбраковывается. Устанавливаются причины и устраняются допущенные недостатки. Далее приготовление питательной среды повторяется.

Для каждого реактива используется только для него предназначенная стеклянная пипетка.

Гранулы аммиачной селитры гигроскопичны, их необходимо хранить в герметичной ёмкости или пластиковом пакете.

Растворы хранятся только в пластиковых бутылках. Хранение растворов в стеклянных, керамических или прочих ёмкостях не допускается. Не желательно хранить реактивы на свету и при температуре выше комнатной. На всех сосудах с реактивами и гранулированной смеси должны быть этикетки (Приложение А).

### 2.1 Состав питательной среды

1. Аммиачная селитра, ГОСТ 2-85	0,2 г
2. Аммофос, ГОСТ 19691-84, 15% раствор	0,1 мл
3. Железо хлорид, ГОСТ 4147-74, 1% раствор	0,15 мл
4. Кобальт азотнокислый, ГОСТ 4528-78, 0,1% раствор	0,1 мл
5. Медь сернокислая, ГОСТ 4165-78, 0,1% раствор	0,1 мл
6. Углекислый газ, раствор (pH 5-7)	10 мл
7. Водопроводная вода по СанПиН 2.1.4.559-96	1000 мл

## 2.2 Приготовление реактивов

### 2.2.1 Аммиачная селитра.

Необходимое количество азота (N) на 1 литр воды составляет 64-68 мг. Используется гранулированная аммиачная селитра с содержанием N – 34%. Гранулы вводятся непосредственно в воду.

### 2.2.2 Аммофос, 15% раствор.

Необходимое количество фосфора (P) на 1 литр воды составляет 8 мг. Для приготовления реактива используется аммофос с содержанием P 48-50%. 15% раствор готовится следующим образом. В 10-ти литровой стеклянный баллон вносят 1,5 кг Аммофоса. В баллон вливают водопроводную воду в количестве 6-7 литров. В течение одного часа несколько раз тщательно размешивают гранулы в воде. Раствору дают отстояться в течение одних суток. По истечении указанного срока раствор тщательно перемешивают в течение одного часа несколько раз. Еще раз дают отстояться в течение одних суток. На третьи сутки после тщательного перемешивания (на дне не растворившихся гранул не должно оставаться) объём раствора доводят до 10-ти литров водопроводной водой.

Раствору дают отстояться одни сутки. После отстоя прозрачную верхнюю часть аккуратно сливают. Осадки не должны попасть в раствор. Весь полученный раствор должен быть прозрачным. Выход раствора составляет 8-9 литров. В одном мл такого раствора будет содержаться 80 мг P.

Срок хранения реактива не ограничен.

### 2.2.3 Железо хлорид, 1% раствор.

Готовится 1% раствор железа хлорид ( $\text{FeCl}_3 \cdot 6 \text{H}_2\text{O}$ ). 1 г железа хлорид вводят в мерную колбу на 100 мл тщательно ополоснутую дистиллированной водой. Объём раствора доводят до 100 мл. Раствор железа хлорид готовят на дистиллированной воде ГОСТ 6709-72. После приготовления раствора в него вводят 1 каплю концентрированной или две капли (1:1) соляной кислоты (HCl) ГОСТ 3118-77. С концентрированной кислотой необходимо обращаться осторожно. Раствор (1:1) готовят следующим образом. В 0,5 литровую термостойкую колбу вносят 100 мл дистиллированной воды. Маленькой струйкой по стенке колбы вливают 100 мл соляной кислоты (HCl), соблюдая осторожность. Время от времени раствор тщательно взбалтывают. После приготовления раствору дают остыть. Готовый раствор переливают в сосуд с меньшим объёмом, подписывают и хранят в недоступном для прочих лиц месте. Срок хранения такого раствора не ограничен. Раствор железа хлорид окрашен в слабо желтый цвет.

### 2.2.4 Кобальт азотнокислый, 0,1% раствор.

0,1% раствор кобальта азотнокислого ( $\text{CoNO}_3$ ) готовится на дистиллированной воде. Навеску кобальта азотнокислого – 1 г растворяют в 1 литре дистиллированной воды.

Срок хранения раствора не ограничен.

### 2.2.5 Медь сернокислая, 0,1% раствор.

0,1% раствор меди сернокислой ( $\text{CuSO}_4$ ) готовится на дистиллированной воде. Навеску меди сернокислой – 1 г растворяют в 1 литре дистиллированной воды.

Срок хранения раствора не ограничен.

### 2.2.6 Углекислый газ, раствор (pH 5-7).

Для приготовления раствора углекислого газа используют клетчаткосодеждающий материал: солому (пшеничную), полосу (пшеничную). Ёмкость заполняют половой или измельченной соломой и тщательно утрамбовывают. Содержимое ёмкости заливают питательной средой по п. 2.1 или п. 2.4 и выдерживают в течение двух часов при температуре 28-30°C. Через два часа раствор углекислого газа сливают и добавляют в суспензию хлореллы. В ёмкость ежедневно добавляют питательную среду (по п. 2.1 или п. 2.4). Раствор углекислого газа используют четыре раза, после чего клетчаткосодеждающий материал из ведра удаляют и процесс повторяют. В ночное время ёмкость с раствором углекислого газа держат в холодильнике.

## 2.3 Приготовление рабочих реактивов

2.3.1 Азотно-фосфорный раствор готовится путем добавления к реактиву по п. 2.2.2 гранулированной аммиачной селитры по п. 2.2.1 и дистиллированной воды в соотношении 1,00 л : 1,88 кг : 1,00 л. После полного растворения аммиачной селитры раствор необходимо профильтровать.

Срок хранения раствора не ограничен.

2.3.2 Железо хлорид используется по п. 2.2.3.

2.3.3 Медно-кобальтовый раствор готовится путем добавления к реактиву по п. 2.2.5 реактива по пункту 2.2.4 в соотношении 1 : 1.

Срок хранения раствора не ограничен.

## 2.4 Рабочая питательная среда

1. Азотно-фосфорный раствор	0,3 мл
2. Железо хлорид, 1% раствор	0,15 мл
3. Медно-кобальтовый раствор, 0,1%	0,2 мл
4. Углекислый газ, раствор (pH 5-7)	10 мл
5. Водопроводная вода	1000 мл

## 3 Технология производства и получения суспензии хлореллы

Производство суспензии хлореллы основано на фотосинтезе микроводорослей, который осуществляется в ёмкости, с использованием питательной среды, искусственного освещения и при определенной температуре культивирования.

Процесс производства непрерывный, при котором из емкости ежедневно сливается часть объёма суспензии клеток микроводорослей, которая идет на выпаивание животным. Воспроизводство хлореллы осуществляется в питательном растворе, приготовленном по рецепту п. 2.1 или 2.4. Необходимое количество реактивов на различ-

ные объемы рабочей питательной среды для культивирования хлореллы приведены в Приложениях Б и В.

Культивирование хлореллы ведется круглый год, продуктивность не зависит от сезона года.

### *3.1 Подготовка к выращиванию и выращивание хлореллы*

Маточная культура суспензии хлореллы вносится в количестве 20% от объёма ёмкости. Оставшийся объём заполняют питательной средой (п. 2.1).

Ежедневно на протяжении трёх суток в ёмкость вливают необходимое количество раствора углекислого газа (2.2.6). Через четыре дня суспензия хлореллы готова к использованию. Готовность суспензии определяют по оптической плотности или коэффициенту пропускания. Оптическая плотность должна находиться в пределах от 1,8 до 1,4 включительно, соответственно коэффициент пропускания должен быть в пределах от 2% до 4% включительно. Готовая суспензия хлореллы должна освещать требованиям ТУ 9482-001-12001826-05.

Процесс выращивания микроводорослей осуществляется ежедневно, который предусматривает слив части готовой суспензии и добавление питательного раствора.

### *3.2 Условия освещения суспензии хлореллы*

Хлорелла культивируется при искусственном освещении. Для этих целей можно использовать люминесцентные, ртутно-кварцевые или лампы смешанного типа.

Необходимое время освещения составляет 12 часов в сутки.

При культивировании хлореллы с использованием солнечного света не следует допускать перегрева суспензии хлореллы выше 30° С.

### *3.3 Температурные условия*

Оптимальная температура культивирования суспензии хлореллы составляет 28-30°С. Минимальная температура культивирования 26°С. После достижения температуры 36°С в суспензии хлореллы деление клеток прекращается. Максимальная температура, которую выносят клетки хлореллы – 46°С.

### *3.4 Хранение маточной культуры*

Маточная культура штамма *Chlorella vulgaris* ИФР №С-111 хранится при комнатной температуре на рассеянном свете в стеклянной колбе с ватной пробкой. Срок хранения до десяти лет. Хранение штаммов на твердых питательных средах не допускается.

## **ПРИЛОЖЕНИЕ**



## ПРИЛОЖЕНИЕ А (справочное)

На всех реактивах должны быть этикетки, например:

Реактив № 2  
на 60 л питательной среды 6 мл

Для каждого реактива используется отдельная пипетка, на всех пипетках должны быть этикетки, например:

Реактив № 2

6. Водопроводная вода по СанПиН 2.1.4.559-96 1000 мл

## ПРИЛОЖЕНИЕ Б (справочное)

Необходимое количество реактивов на различные объёмы питательной среды для культивирования штамма *Chlorella vulgaris* BIN

Показатели	на 1 л	на 10 л	на 60 л	на 100 л	на 240 л
1. Аммиачная селитра, г	0,2	2,0	12,0	20,0	48,0
2. Аммофос, 15% раствор, мл	0,1	1,0	6,0	10,0	24,0
3. Железо хлорид, 1% р-р, мл	0,15	1,5	9,0	15,0	36,0
4. Кобальт азотнокислый, 0,1% раствор, мл	0,1	1,0	6,0	10,0	24,0
5. Медь сернокислая, 0,1% раствор, мл	0,1	1,0	6,0	10,0	24,0
6. Углекислый газ, раствор (рН 5-7), мл	10,0	100,0	600,0	1000,0	2400,0

**ПРИЛОЖЕНИЕ В**  
(справочное)

Необходимое количество реактивов на различные объёмы  
рабочей питательной среды для культивирования  
штамма *Chlorella vulgaris* BIN

Показатели	на 1 л	на 10 л	на 60 л	на 100 л	на 240 л
1. Азотно-фосфорный раствор, мл	0,3	3,0	18,0	30,0	72,0
2. Железо хлорид, 1% р-р, мл	0,15	1,5	9,0	15,0	36,0
3. Медно-кобальтовый раствор, 0,1%	0,2	2,0	12,0	20,0	48,0
4. Углекислый газ, раствор, л	0,01	0,1	0,6	1,0	2,4