

Dyrking av mikroalger - fra vitenskapelig spesialitet til industriell virksomhet

Av Olav M. Skulberg

Olav M. Skulberg er seniorforsker
ved Norsk institutt for vannforskning

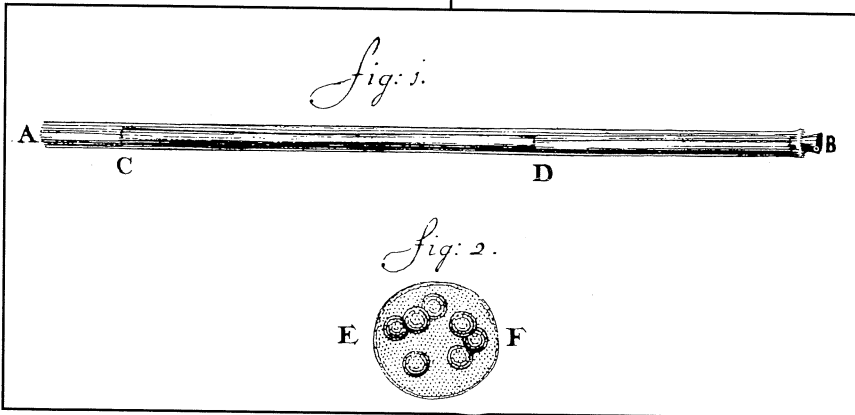
Tidlig begynnelse

Forskningsmessig dyrking av alger - renkulturer - er bare litt over hundre år i vitenskapelig sammenheng (Oltmanns 1904). Imidlertid kan det være interessant å nevne at nederlenderen Antony van Leeuwenhoek [1632-1723] i årene 1700-1716 foretok studier av protozoer - animalcules, "little animals" - hvor han bl.a. benyttet dyrking av alge-flagellater (Dobell 1932). I et brev dattert i januar 1700 til Royal Society i London beskriver Leeuwenhoek hvor-

"Such cultures have proved very helpful in elucidating the physiological interrelation between algae and other microorganisms, without a knowledge of which we cannot hope to understand their conditions of life or proceed methodically to obtain pure cultures, which must form the basis of exact biochemical research and of the investigation of the physiology of development."

- om renkulturer av mikroorganismer

M.W. Beijerinck (1851-1931)



Figur 1. Tegning, utført av Antony van Leeuwenhoek, som ledsaget brevet til Royal Society, London 2. januar 1700. Koloni av Volvox som viser dannelsen av datterkolonier

dan han gjorde oppdagelsen av *Volvox*. Han foretok studier av denne organismen. Et viktig hjelpemiddel i arbeidet var små glassrør med næringsrikt vann, hvor han bl.a. holdt *Volvox* levende gjennom en måneds tid og observerte livsytklus (Figur 1).

Bruk av kulturer i utforskningen av mikroorganismer utviklet seg raskt i det nittende århundre. De autotrofe mikroorganismer fikk i kultursammenheng senere oppmerksomhet enn de heterotrofe. Renkulturer som forskningsverktøy ble snart en nødvendighet til eksperimentelle studier innen mikrobiologi. Forskere som R. Koch [1843-1910] og L. Pasteur [1822-1895] var bl.a. banebrytere når det gjaldt dyrking og dyrkingsmetoder for bakterier og sopp (Stanier et al. 1963).

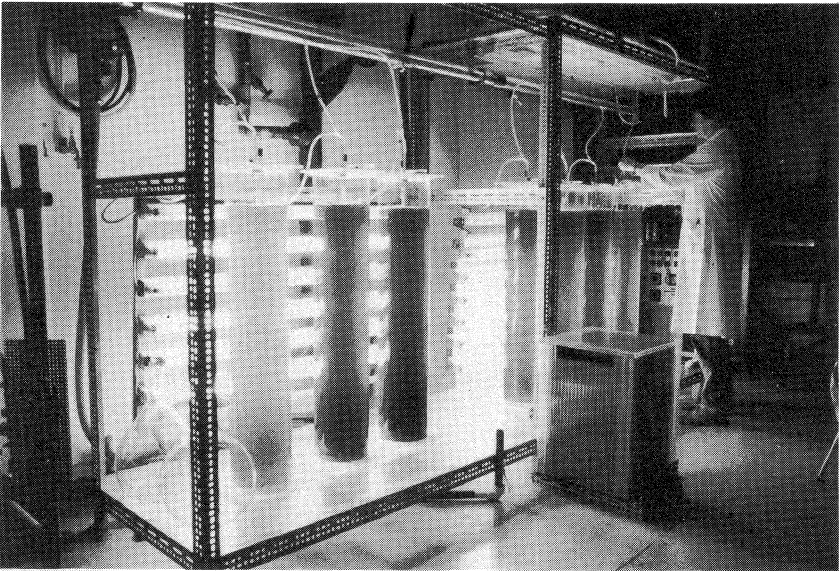
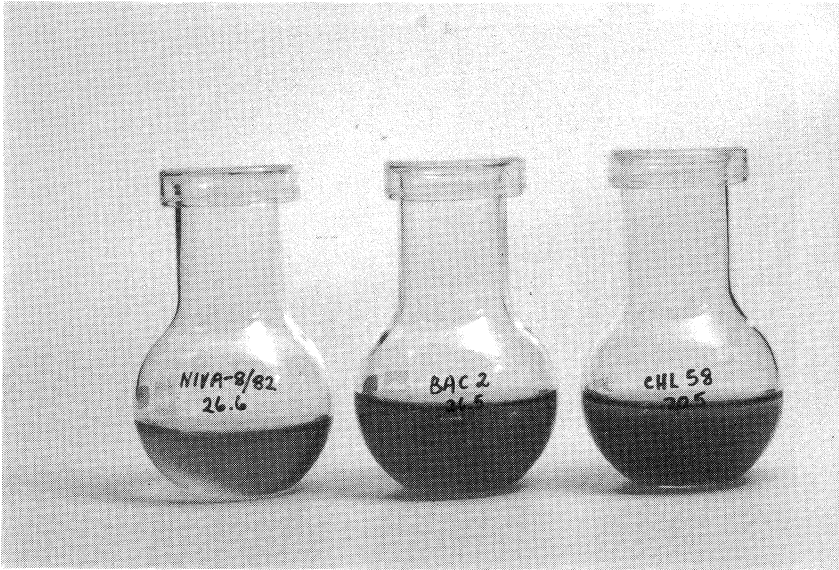
Laboratoriedyrking av mikroalger

Plantefysiologenes interesse for å avklare næringsbehovet til algene ga bl.a. viktig impuls til å holde alger i kultur. Kjente forskningsarbeider fra denne grunnleggende periode - knyttet bl.a. til biologer som A. Faminzyn [1835-1918], H. Molisch [1856-1937], M.W. Beijerinck [1851-1931] og R. Chodat [1885-1934] - er behandlet i det klassiske skrift til E.G. Pringsheim: *Pure cultures of algae* (1949). Denne enkle boka gir en fin innføring i algedyrkingens vesentlige metoder, og den faglige og praktiske utvikling av virksomheten. - (Figur 2).

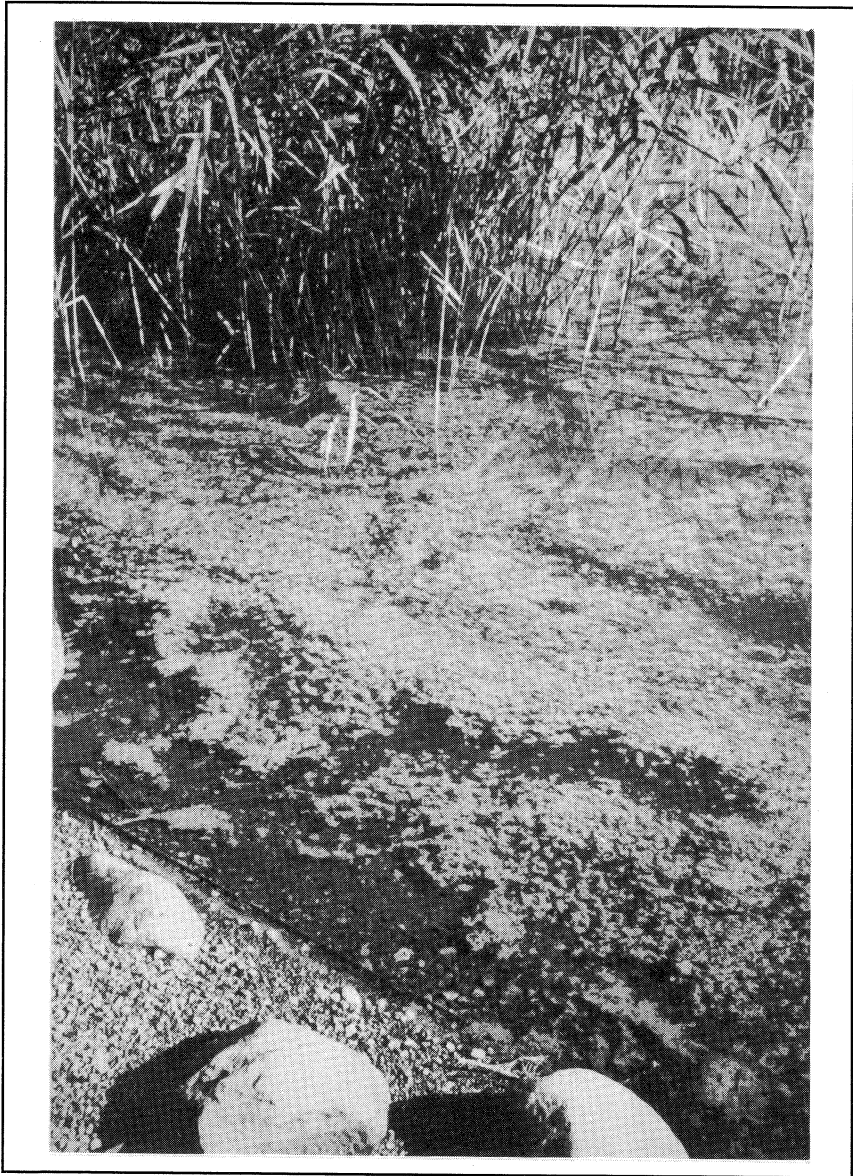
Dyrking av alger ble tatt i bruk som et verktøy for biologisk forskning, mer

enn som et mål i seg selv. Dette kommer særlig tydelig frem i arbeidene som bidro til forutsetningene for fremveksten av moderne biokjemi. De sentrale forskningsbestrebelse til bl.a. A.J. Kluyver [1888-1956] og O. Warburg [1883-1970] fremmet interessen for å beskrive de kjemiske prosessene som var fundamentale for livsaktivitetene. Algekulturene kunne benyttes som eksperimentelle modellsystemer, og de kombinerte hensiktsmessig muligheter for morfologiske og fysiologiske studier. Med omfattende bruk av algekulturer fremkom f.eks. C.B. van Niels fruktbare teori (ca 1960) om at fotosyntesen danner et essensielt element for den naturlige klassifisering av kjemosyntetiske og fotosyntetiske mikroorganismer i forhold til andre autotrofe organismer (Murray 1974). A. Lwoffs utforskning av algeflagellater gir tilsvarende eksempler på anvendelsen og betydningen av kulturmetoder (1951). Med de velkjente arbeidene til S.H. Hutner & L. Provasoli (1951) og L. Provasoli (1968) ble kjennskapet til algenes næringskrav - bl.a. sporstoffer og vitaminer - og fysiske vekstbetingelser vesentlig utvidet. Den forskningsmessige bruk av algekulturer i økologiske forskningsbestrebelse ble pedagogisk behandlet av G.E. Fogg (1965). - (Figur 3).

Det har vært en rask utvikling i virksomhet med kulturer og kultursamlinger i løpet av de siste tiår (Kirsop & Snell 1984, Zaborsky 1998). Den økende forskningsaktivitet på felt som tar utgangspunkt i levende organismer for eksperimentelle studier, innebærer



Figur 2. Dyrking av mikroalger i laboratoriet utføres som porsjonskulturer eller kontinuerlige kulturer. Definerte mineralske næringsoppløsninger, lys som energikilde og kontrollerte miljøbetingelser danner grunnlaget for de praktiske rutine med algekulturer.



Figur 3. Masseutvikling - vannblomst - av blågrønnalgen *Microcystis aeruginosa* (Akersvatnet, Vestfold). Studiet av mikroalgene forutsetter observasjoner in situ kombinert med eksperimentelle undersøkelser. Bruk av algekulturmeter er et fruktbart hjelpemiddel i økologisk forskning.

en voksende betydning av kultursamlinger med mikroorganismer. Spesielt utviklingen av moderne bioteknologi forsterket denne tendens (Cheremisinoff & Quелlette 1985, Samson et al. 1996). Så vel nasjonalt som internasjonalt blir det stadig større behov for å bygge opp den profesjonelle virksomhet med kultursamlinger - ofte spesialisert til bestemte formål - som kan gi en fullverdig tjeneste til de forskjellige bruksområder (forskning, praktisk anvendelse, undervisning). Organisasjoner som European Culture Collections' Organization (ECCO) og World Federation of Culture Collections (WFCC) ivaretar det internasjonale samarbeidet når det gjelder kultursamlinger av mikroorganismer (Samson et al. 1996).

Norske bidrag i utviklingen

Det er all grunn til å huske norske forskeres innsats med å utvikle dyrkingsmetoder for mikroalger og bruk av kulturer i forskningsøyemed. Norge har solid vitenskapelig tradisjon i utforskningen av alger og algevegetasjon. Universiteter og høyskoler har både i eksperimentell og pedagogisk sammenheng i stor utstrekning benyttet seg av kulturer med alger. Spesielt når det gjelder mikroalger kan det vises til vitenskapsmenn som N. Wille [1858-1924], H.H. Gran [1870-1955], H. Printz [1888-1978], K. Strøm [1902-1967], B. Føyn [1898-1985] og T. Braarud [1903-1985]. Ved universitetene i Oslo, Bergen, Trondheim og Tromsø blir fortlø-

pende denne forskningstradisjonen ført aktiv videre knyttet til fagområder som f.eks. systematikk, fysiologi, biokjemi, molekylærbiologi og økologi. Her finnes det også kultursamlinger av mikroalger som er knyttet til bestemte forskningsoppgaver og undervisningen.

Norsk institutt for vannforskning bygde i 1960-årene opp en kultursamling med arter av mikroalger isolert fra norske lokaliteter. Algekultursamlingen var grunnlaget for instituttets egen forskningsvirksomhet knyttet til algeutviklingen i norske vannforekomster. Samtidig ble det etablert en åpen tjeneste med leveranser av definerte klonkulturer til forskere og institusjoner nasjonalt og internasjonalt (Skulberg & Skulberg 1990). NIVAs kultursamling av alger omfattet i 1998 omlag 670 klonkulturer av mikroalger fordelt på 115 slekter og 290 arter.

Algedyrking som industriell virksomhet

Den praktisk-økonomiske utnyttelse av alger har på vesentlig måte fremmet bruken av algekulturer og gitt behov for kultursamlinger (Soeder 1980). Et kort tilbakeblikk på noen milepeler kan gi en skisse av utviklingen.

Den vitenskapelige bruk av mikroalger hadde vist at de kunne dyrkes i enkle mineralløsninger. Celledelingen kunne foregå flere ganger i døgnet. Det kunne produseres biomasse hvor f.eks. proteiner utgjorde mer enn 50% av tørrvekten. Denne kunnskapen om mikroalgenes evne til å syntetisere verdifulle næringsemner og andre verdifulle for-

bindelser dannet utgangspunktet for deres praktiske anvendelse.

Masseproduksjon av diatomeer ble foretatt i Tyskland under den annen verdenskrig for å produsere lipider som var mangelvare for befolkningen. Også i Japan var massedyrking av mikroalger innledet i 1940-årene. Dette førte frem til storskalaproduksjon av bl.a. *Chlorella* fra ca 1950 med flere industribedrifter i Øst Asia.

Et faglig gjennombrudd ble gjort i USA med den berømte Carnegie Institution Report: Algal Culture, from Laboratory to Pilot Plant (Burlew 1964). I 1960-årene ble det i Tsjekkoslovakia gjort omfattende forskningsvirksomhet med massedyrking av mikroalger i teknisk målestokk (Setlík et al. 1970). Også i Sovjetsamveldet foregikk det massedyrking av mikroalger i samme tidsrom (Gromov 1968). Mulighetene for å benytte mikroalger i forbindelse med romferder stimulerte interessen for relevant forskningsvirksomhet både i Sovjetsamveldet (Semenenko et al. 1966) og USA (Shelef et al. 1970). Anvendelsen av dyrkingssystemer med mikroalger for behandling av avløpsvann ble et nytt teknologisk arbeidsfelt (Oswald 1975), og fikk etterhvert omfattende praktisk betydning (Hoffmann 1998).

Det var i 1980-årene at algekulturteknologi utviklet seg internasjonalt til et betydelig industrielt virksomhetsområde (Borowitzka & Borowitzka 1988, Richmond 1990). Fysiologisk egnede mikroalger ble tatt i bruk til kommersiell massedyrking for fremstilling av handelsprodukter. Velkjente eksempler

er anvendelsen av arter fra slektene *Spirulina*, *Dunaliella* og *Haematococcus*. I forbindelse med akvakultur fikk fôrorganismer praktisk betydning. Mikroalger innenfor slektene *Isochrysis*, *Rhodomonas* og *Tetraselmis* kan nevnes som eksempler (Yufera & Lubián 1990).

Algenes egenskaper og stoffproduksjon blir stadig på mer omfattende måte nyttiggjort i moderne bioteknologi (Goldman 1979, Gudin & Chaumont 1984, Watanabe 1992). Et viktig anvendelsesområde som nå vokser frem er mikroalgenes muligheter innenfor energisektoren. Forskningsvirksomhet i USA hadde vist at biomasse av mikroalger kunne fermenteres og gi metan med en omdannelseseffektivitet på 50-70% (Oswald & Golueke 1960). Forskningsfeltet fotosyntese og mikroalger ble interessant som praktisk løsning for utnyttelse av solenergi (Hall & Rao 1994). En oppdagelse i USA knyttet til eksperimenter med *Scenedesmus* (Gaffron & Rubin 1942) - hvor det ble påvist at denne algen kunne utvikle molekylært hydrogen - skulle åpne for et enda større perspektiv. Med hydrogen som energibærer, og biofotolytisk spalting av vann som fremstillingsmåte, vil mikroalgene i kultursammenheng kunne innta en revolusjonerende plass i det kommende verdenssamfunn (Yürüm 1995, Zabor-sky 1998).

Mikroalgenes fortrinn til praktisk dyrking

De fotosyntetiske mikroorganismene er foreløpig i liten utstrekning tatt i bruk i

teknologisk sammenheng (Mann & Carr 1992). Mikroalgene representerer - i global sammenheng - kanskje den største gjenstående biologiske ressurs for utvikling og næringsvirksomhet i årene som kommer. En rekke fortrinn praktisk og økonomisk vurdert, gir dem en positiv plass blant kulturorganismene.

Dyrking av mikroalger innebærer et effektivt produksjonssystem for nyttiggjøring av solenergi og karbondioksid til fremstilling av viktige organiske forbindelser, f.eks. proteiner, lipider, karbohydrater, pigmenter og biopolymerer. Mens høyere planter vanligvis har de ønskede verdistoffene lokalisert i bestemte plantedeler som høstes - f.eks. frø, frukter, røtter - har mikroalgene som encellede organismer de samme kvaliteter i hele biomassen som utvikles. Via fysiologiske påvirkninger kan algecellene dessuten induseres til å gi høyt utbytte av spesielle substanser som det er behov for. Da livscyklus til mikroalgene er relativt kort - fra timer til døgn - egner de seg godt for genetisk seleksjon. Ikke minst gjelder dette blågrønnalgene (prokaryoter), som også peker seg ut som hensiktsmessige for molekylærbiologisk modifikasjon.

Litteratur

Borowitzka, M.A. & Borowitzka, L.J. (1988): Micro-algal biotechnology. - Cambridge University Press, Cambridge. 477 pp.
Burlew, J.S. (ed.) (1964): Algal culture from laboratory to pilot plant. - Carnegie Institution of Washington

“If it achieves the success which it deserves, it may well open up a new era in the intensive investigation of the many aspects of lower organisms that claim the immediate attention of biologists. In many ways the study of this branch of microbiology is of outstanding economic importance, quite apart from its fundamental interest in exposing the characteristics and modes of life of lower forms of plant and animal organization.”

- om dyrking av alger.

F.E. Fritsch (1879-1954)

Publication 600, Washington D.C. 357 pp.
Cheremisinoff, P.N. & Ouellette, R.P. (eds.) (1985): Biotechnology. Applications and Research. - Technomic Publishing Company, Lancaster. 699 pp.
Dobell, C. (1932): Antony van Leeuwenhoek and his “Little Animals”. - Dover Publications, New York. 435 pp.
Fogg, G.E. (1965): Algal cultures and phytoplankton ecology. - The University of Wisconsin Press, Madison. 126 pp.
Gaffron, H. & Rubin, J. (1942): Fermentative and photochemical production of hydrogen in algae. - J. gen. Physiol. 26: 219-240.
Goldman, J.C. (1979): Outdoor algal mass cultures. Photosynthetic yield limitations. - Water Research 13: 119-136.
Gromov, B.V. (1968): Main trends in

experimental work with algal cultures in the U.S.S.R. - In: D.F. Jackson (ed.), *Algae, man and the environment*, p. 249-278. - Syracuse University Press, New York.

Gudin, C. & Chaumont, D. (1984): Solar biotechnology and development of tubular solar receptors for controlled production of photosynthetic cellular biomass for methane production and specific exocellular biomass. - In: W. Paiz & D. Pinewitz (eds.), *Energy from biomass*, p. 184-193. - D. Reidel, Dordrecht.

Hall, D.O. & Rao, K.K. (1994): *Photosynthesis. Studies in Biology.* - Cambridge University Press, Cambridge. 211 pp.

Hoffmann, J.P. (1998): Wastewater treatment with suspended and nonsuspended algae.- *J. Phycol.* 34: 757-763.

Hutner, S.H. & Provasoli, L. (1951): *The phytoflagellates.* - In: A. Lwoff (ed.), *Biochemistry and Physiology of Protozoa.* Vol. I. p. 27-128. - Academic Press, New York.

Kirsop, B.E. & Snell, J.J.S. (1984): *Maintenance of mikroorganisms. A manual of laboratory methods.* - Academic Press, London. 207 pp.

Lwoff, A. (1951): *Introduction to biochemistry of protozoa.* - In: A. Lwoff (ed.), *Biochemistry and physiology of protozoa,* Vol. I, p. 1-26. - Academic Press, New York.

Mann, N.H. & Carr, N.G. (1992): *Photosynthetic prokaryotes.* *Biotechnology Handbooks,* 6. - Plenum Press, New York. 275 pp.

Murray, R.G.E. (1974): *A place for bacteria in the living world.* - In: R.E. Buchanan & N.E. Gibbons (eds.), *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology,* p. 4-9. - The Williams and Wilkins Company, Baltimore.

Oltmanns, F. (1904): *Morphologie und Biologie der Algen.* Erster Band, Spezieller Teil - Verlag von Gustav Fischer, Jena. 733 pp.

Oswald, W.J. (1975): *Experiences with new pond designs in California.* - In: E.F. Gloyna, J.F. Malina & E.M. Davis (eds.), *Ponds as a wastewater treatment alternative.* - *Water Resources Symp. No. 9.* University of Texas, Austin.

Oswald, H.J. & Golueke, C.G. (1960): *Biological transformations of solar energy.* - *Adv. Appl. Microbiol.* 2: 223-233.

Pringsheim, E.G. (1949): *Pure cultures of algae.* - Cambridge University Press, Cambridge. 119 pp.

Provasoli, L. (1968): *Media and prospects for the cultivation of marine algae.* - In: A. Watanabe & A. Hattori (eds.), *Cultures and Collections of Algae,* p. 63-75. - *Jap. Soc. Plant Physiol., Hakone.*

Richmond, A. (1990): *Large scale microalgal culture and applications.* *Progress in Phycological Research,* Vol. 7, p. 269-330. (Round/Chapman, eds.). - Biopress Ltd. Bristol.

Samson, R.A.; Stalpers, J.; van der Mei, D. & Stouthamer, A.H. (1996): *Culture collections to improve the quality of life.* - *World Federation for Culture Collections,* ISBN 90-70351-

33-1, Ponsen & Looyen, Wageningen, The Netherlands. 504 pp.
Semenenko, V.E.; Vladimirova, M.G.; Soglin, L.N.; Tants, M.I.; Phillipovskiy, N.; Klyachko-Gurvich, G.L., Kuznetsov, E.D.; Kovanova, E.S. & Raijkov, N.I. (1966): Prolonged continuous directed cultivation of algae and physiological and chemical characteristics of the productivity and efficiency of light energy utilization by *Chlorella*. - Upr. Biosynthes. U.S.S.R., 128. 136 pp.
Setlík, I., Sust, V. & Málek, I. (1970): Dual purpose open circulation units for large scale culture of algae in temperate zone. Basic design considerations and scheme of pilot plant. - Algol. Stud. Třeboň, 1: 111-164.
Shelef, G.; Oswald, W.J. & McGauhey, P.H. (1970): Algal reactor for life support systems. - J. Sanit. Eng. Div. Am. Soc. Civ. Eng., 96(SA 1): 91-125.
Skulberg, R. & Skulberg, O.M. (1990): Forskning med algekulturer. NIVAs kultursamling av alger. Research with algal cultures. - NIVAs Culture Collection of Algae. Norsk institutt for vannforskning, Oslo. ISBN 82-577-1743-6. 32 pp.

Soeder, C.J. (1980): Massive cultivation of microalgae: Results and prospects. - Hydrobiologia 72: 197-209.
Stanier, R.Y.; Doudoroff, M. & Adelberg, E.A. (1963): The microbial world. - Prentice-Hall, Inc., Englewood Cliffs, USA. 753 pp.
Watanabe, M.M. (1992): Proceedings of the symposium on culture collection of algae. - National Institute for Environmental Studies, Environment Agency. - ISEBU, Tsukuba, Japan. 76 pp.
Yufera, M. & Lubián, L.M. (1990): Effects of microalgal diet on growth and development of invertebrates in marine aquaculture. - In: I. Akatsuka (ed.), Introduction to Applied Phycology, p. 209-227. - SPB Academic Publishing, The Hague.
Yürüm, Y. (ed.) (1995): Hydrogen energy system. Production and utilization of hydrogen and future aspects. - Kluwer Academic Publishers, Dordrecht. 341 pp.
Zaborsky, O.R. (ed.) (1998): BioHydrogen. - Plenum Press, New York. 552 pp.