

УДК 579:582.26/.27:639.64

И.Н. ГУДВИЛОВИЧ, А.Б. БОРОВКОВ

Ин-т биологии южных морей им. А.О. Ковалевского НАН Украины,

пр. Нахимова, 2, 99011 Севастополь, Украина

e-mail: gudirina2008@yandex.ru, spirit2000@ua.fm

**ПРОДУКЦИОННЫЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ
PORPHYRIDIUM PURPUREUM (BORY) ROSS В УСЛОВИЯХ
НАКОПИТЕЛЬНОЙ И КВАЗИНЕПРЕРЫВНОЙ КУЛЬТУРЫ**

Определён характер изменения содержания пигментов *Porphyridium purpureum* в квазинепрерывной культуре и показана возможность регулирования содержания пигментов в клетках микроводоросли с помощью варьирования удельной скорости потока среды. Содержание пигментов в биомассе *P. purpureum* в диапазоне скоростей обновления среды от 0,1 до 0,4 сут⁻¹ увеличивается на 50 %. Продуктивность культуры *P. purpureum* увеличивается с ростом удельной скорости потока среды. Максимальная продуктивность по биомассе и фотосинтетическим пигментам реализуется в диапазоне скоростей потока среды 0,3–0,4 сут⁻¹ и достигает: по биомассе 0,5 г орг. вещ-ва · л⁻¹ · сут⁻¹, а по В-фикоэритрину – 40 мг · л⁻¹ · сут⁻¹. Установлено, что продуктивность квазинепрерывной культуры *P. purpureum* по биомассе и пигментам в 1,5–3 раза выше, чем её продуктивность при накопительном выращивании.

Ключевые слова: *Porphyridium purpureum*, накопительная культура, квазинепрерывная культура, фикобилипротеины, продуктивность.

Введение

В последние десятилетия интерес к пигментам микроводорослей, в частности к фикобилипротеинам, существенно возрос в результате установления их высокой антиоксидантной активности (Hirata et al., 2000; Abd El-Baky, 2003; Ефремова, 2009). Увеличилось количество производств по выращиванию микроводорослей для последующего выделения из них биологически ценных веществ (Минюк, 2008; Worowitzka, 1995). Количество таких веществ, получаемых из водорослей, с каждым годом увеличивается, а спектр биологически ценных веществ и водорослей-продуцентов неуклонно расширяется.

Одноклеточная красная микроводоросль *Porphyridium purpureum* представляет значительный интерес благодаря уникальному составу пигментов. В составе *P. purpureum* выявлены В-фикоэритрин, b-фикоэритрин, R-фикоцианин, аллофикоцианин, аллофикоцианин В, относящиеся к группе фикобилипротеинов (Стадничук, 1990; Судына та ін., 2007; Glazer, 1977), а также хлорофилл *a* и каротиноиды (β-каротин, зеаксантин и β-криптоксантин) (Koresky et al., 2002). Изучению влияния условий культивирования на рост данной микроводоросли, а также особенностям накопления в клетках фикобилипротеинов посвящено

© И.Н. Гудвиллович, А.Б. Боровков, 2014

довольно много исследований (Тренкеншу, 1984; Упитис и др., 1989; Судына та ін., 2007; Гудвилевич, 2010; Jahn et al., 1984; Fabregas et al., 1998; Xiao et al., 2001; Kathiresan et al., 2006). Подавляющее большинство подобных работ выполнено в лабораторных условиях в малых объемах периодических культур. Экстраполяция полученных закономерностей на другие системы и условия культивирования может привести к ошибочным заключениям при прогнозировании как продуктивности культуры, так и динамики содержания биологически ценных веществ в клетках микроводоросли. Известные технологии выращивания микроводорослей основаны, как правило, на методе периодических культур, который является наиболее изученным и разработанным на сегодняшний день. Возможности квазинепрерывного культивирования, как способа управления процессами биосинтеза ценных веществ, изучены недостаточно (Fabregas et al., 1998; Fernandez et al., 1998), что вызывает трудности в разработке промышленных технологий культивирования микроводорослей на основе данного способа для последующего получения БАВ.

В связи с этим нам предстояло выявить особенности изменения продуктивности культуры *P. purpureum*, а также режимы, позволяющие получать максимальную продукцию как по биомассе, так и по биологически ценным веществам.

Материалы и методы

Исследования проводили с культурой красной микроводоросли *Porphyridium purpureum* (синоним *P. cruentum* Näg.) (штамм IBSS-70 из коллекции ИнБЮМ НАН Украины). Экспериментальные работы выполняли на базе отдела биотехнологий и фиторесурсов ИнБЮМ НАНУ. В работе использовали питательную среду по Р.П. Тренкеншу (1984) (табл. 1).

Таблица 1

Среда по Р.П. Тренкеншу (1984), используемая для культивирования *Porphyridium purpureum*

Компонент	Навеска, г·л ⁻¹
NaNO ₃	1,2
NaH ₂ PO ₄ × 2H ₂ O	0,45
Na ₂ EDTA	0,037
FeC ₆ H ₅ O ₇ × 7H ₂ O	0,0265
MnCl ₂ × 4H ₂ O	0,0040
CoCl ₂ × 6H ₂ O	0,0031
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ × 4H ₂ O	0,0009
K ₂ Cr ₂ (SO ₄) ₄ × 24H ₂ O	0,0017

Культуру *Porphyridium purpureum* выращивали в установке, которая состояла из четырех фотобиореакторов, системы подачи газовой смеси, термостабилизирующей системы и системы освещения. Фотобиореактор представлял собой ёмкость из стекла размером 5×25×50 см (плоскопараллельный тип) с рабочей толщиной 5 см, т.е. выполнялось условие перпендикулярности вектора светового пути к поверхности 25×50 см. Нижняя грань культиватора сделана под углом 25° для улучшения перемешивания суспензии. Газораспределительная система представляла собой замкнутую систему ПВХ трубок диаметром 5 мм, подведенных к нижней части каждого реактора с боковых сторон. На входе в газораспределительную систему с помощью компрессора УК-40 под давлением подавался атмосферный воздух со скоростью 5 л · мин⁻¹, с помощью системы дозирования (ротаметр) подавался из баллона углекислый газ. Процентное содержание углекислоты в смеси колебалось в пределах 2–3 %. Полученная газовоздушная смесь поступала в фотореактор, таким образом осуществлялось перемешивание суспензии. Средняя скорость продувки газовой смеси была 0,5 л · мин⁻¹ · л⁻¹ культуры. Во избежание образования воздушных пробок и пузырей водяной поток внутри охлаждающей рубашки направляли снизу вверх. Увеличение либо уменьшение скорости протока воды через водяную рубашку позволяло поддерживать температуру в фотореакторе на заданном уровне (26–28 °С). В качестве источника света использовали лампу ДРЛ-750, освещённость составляла около 80 Вт/м². В процессе выращивания рН культуральной среды составляла 6–7 единиц, температура – 26–28 °С.

Квазинепрерывную культуру со скоростью обновления среды (ω), например 0,1 сут⁻¹, получали путем периодической (с интервалом в 24 ч) замены 1/10 части суспензии микроводоросли равноценным объемом свежеприготовленной среды. Инокулят вносили в культиваторы с таким расчетом, чтобы начальная плотность во всех вариантах опыта была одинаковой.

На начальном этапе эксперимента *P. purpureum* культивировали в накопительном режиме. В четырех опытных культиваторах (варианты А, В, С и D), находящихся в одинаковых условиях по температуре, поверхностной освещенности и барботажу, были заданы различные начальные концентрации минерального азота и фосфора. Для вариантов А (контроль) и D начальная концентрация азота составляла 119 мг · л⁻¹, для В – 238 мг · л⁻¹, для С – 59,5 мг · л⁻¹. Кроме того, для варианта D концентрация фосфора была уменьшена в 2 раза (25 мг · л⁻¹) по сравнению с остальными вариантами (50 мг · л⁻¹). После 6 суток накопительного культивирования эксперимент продолжили в квазинепрерывном режиме (удельные скорости обновления среды 0,2; 0,3; 0,1; 0,4 сут⁻¹ для культиваторов А–D соответственно). Обмен осуществляли средой по Р.П. Тренкеншу (см. табл. 1) с удвоенной концентрацией неорганического азота и фосфора. Данный режим поддерживали до достижения

культурой стационарного динамического равновесия в течение 3–4 суток.

Плотность культуры, а также содержание сухой биомассы определяли объемно-весовым (Тренкеншу, 1979), а также фотометрическим методами (Методы ..., 1975; Лелеков, 2009). Переход от единиц оптической плотности (D_{750}) к величине сухой биомассы (СВ), осуществляли посредством эмпирического коэффициента: $k = 0,68 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1} \cdot \text{ед.опт.пл}^{-1}$, $\text{СВ} = k \times D_{750}$ (Лелеков, 2009). Содержание нитратного азота в среде определяли потенциометрическим методом с помощью иономера И-160М (Уильямс, 1982). Определяемые показатели химического состава выражали в пересчете на органическое вещество (ОВ). Массовую долю зольного остатка в сырой биомассе микроводорослей устанавливали путем предварительного высушивания навесок (около 1 г) исследуемой биомассы при 105 °С в течение 24 ч и последующего сжигания в муфельной печи при $t = 500 \text{ °С}$ до постоянной биомассы (Методы ..., 1975).

Для количественного определения В-фикоэритрина в биомассе *P. purpureum* проводили её экстракцию фосфатным буфером (0,05 М; рН 7–7,5). Регистрировали оптическую плотность полученных экстрактов в области характеристических максимумов поглощения В-фико-эритрина (545 нм), R-фикоцианина (615 нм) и аллофикоцианина (650 нм), а также при 750 нм (для учета неспецифического поглощения раствора). Концентрацию пигментов в водном экстракте определяли по И.Н. Стадничук, 1990, используя значения оптической плотности для соответствующих длин волн.

Рассчитывали средние арифметические (\bar{x}), стандартные отклонения (S), основные ошибки средних, доверительные интервалы для средних ($\Delta \bar{x}$). Значимость различий выборок определяли, проверяя различия дисперсий выборок (по критерию Фишера), а также средних с помощью t-критерия Стьюдента (в случае, если дисперсии выборок значимо не отличаются) или по приближенному t-критерию (в случае, если дисперсии выборок значимо отличаются). Все расчёты проводили для уровня значимости $\alpha = 0,05$. В таблицах и на графиках представлены средние значения и рассчитанные доверительные интервалы ($\bar{x} \pm \Delta \bar{x}$).

Результаты и обсуждение

Начальная плотность культуры *P. purpureum* составляла $0,48 \text{ г ОВ} \cdot \text{л}^{-1}$. На 6-е сутки, когда она была переведена на квазинепрерывный режим, плотность её составляла $2,6 \text{ г ОВ} \cdot \text{л}^{-1}$ для варианта с минимальной начальной концентрацией азота и $3,1 \text{ г ОВ} \cdot \text{л}^{-1}$ – для остальных вариантов, таким образом увеличившись за 6 суток накопительного культивирования в 5,5–6,5 раз по сравнению с первоначальной (рис. 1). Для варианта опыта В концентрация нитратного азота в среде достигла границы чувствительности электрода ($< 1 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$) на четвертые сутки, С – на вторые, а для А и D – на третьи сутки после начала культивирования. Продолжение активного роста порфиридиума при резком снижении со-

держания нитратного азота в среде (в данном эксперименте удельная скорость роста составила в среднем $0,4 \text{ сут}^{-1}$) отмечается разными исследователями (Тренкеншу, 1984; Упитис и др., 1989).

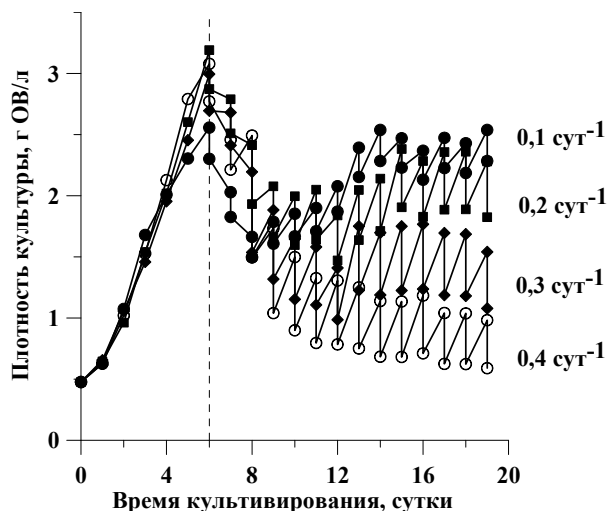


Рис. 1. Динамика плотности накопительной и квазинепрерывной культуры *Porphyridium purpureum*: ■ — вариант А, $0,2 \text{ сут}^{-1}$; ♦ — вариант В, $0,3 \text{ сут}^{-1}$; ● — вариант С, $0,1 \text{ сут}^{-1}$; ○ — вариант Д, $0,4 \text{ сут}^{-1}$. Пунктирная линия — граница между накопительным и квазинепрерывным культивированием

Этот процесс, как правило, объясняется использованием для роста культуры внутриклеточных запасов азота, в т.ч. входящих в состав пигмент-белковых комплексов (хлорофиллов и фикобилипротеинов). Кроме того, известна способность данной микроводоросли достаточно эффективно использовать помимо нитратов и другие источники минерального азота (Хяо и др., 2001), которые могут быть образованы в процессе бактериальной деструкции отмерших клеток.

После изменения режима на квазинепрерывный, через 8 суток во всех культиваторах установилось стационарное динамическое равновесие с различной плотностью культуры *P. purpureum* (в зависимости от установленных удельных скоростей обновления среды) (см. рис. 1). Полученные экспериментальные данные позволили рассчитать продуктивность культуры *P. purpureum* по биомассе при различных удельных скоростях протока среды (табл. 2).

С повышением удельной скорости обновления среды от $0,1$ до $0,2 \text{ сут}^{-1}$ и, соответственно, пропорциональным увеличением подачи биогенных элементов в культуру наблюдалось возрастание продуктивности культуры *P. purpureum* в 1,9 раза ($t = 63,18 > t_{05} = 2,23$). Для диапазона скоростей обновления среды $0,2-0,4 \text{ сут}^{-1}$ значимых изменений продуктивности исследуемой культуры не выявлено ($t = 0,96 < t_{05} = 2,45$). Таким образом, количество биогенных элементов, поступающее в

культуру при 20 % обмене среды достаточно для поддержания максимально высоких скоростей роста *P. purpureum* для этих условий. При дальнейшем повышении доли обмениваемой среды увеличения продуктивности не выявлено.

Таблица 2

Плотность и продуктивность культуры *Porphyridium purpureum* при квазинепрерывном культивировании

Режим культивирования, сут ⁻¹	Плотность культуры, г ОВ · л ⁻¹	Продуктивность по биомассе, г ОВ · л ⁻¹ · сут ⁻¹
0,1	2,55±0,19	0,26±0,02
0,2	2,44±0,19	0,49±0,04
0,3	1,83±0,18	0,55±0,05
0,4	1,20±0,09	0,48±0,04

Содержание В-фикоэритрина (В-ФЭ), R-фикоцианина (R-ФЦ) и аллофикоцианина (АФЦ) в клетках *P. purpureum* на начало эксперимента составляло: 3,58±0,32, 0,45±0,13 и 0,18±0,04 % ОВ соответственно (рис. 2).

За период накопительного культивирования при дефиците азота в среде (варианты А, С и D) относительное содержание фикобилипротеинов (ФБП) резко снизилось, при этом содержание R-ФЦ для вариантов А, С и D составляло в среднем 0,19±0,04 % ОВ, а АФЦ – 0,12±0,03 % ОВ. Минимальное содержание В-ФЭ регистрировали в варианте опыта С (0,4±0,1 % ОВ). При отсутствии выраженного лимитирования по минеральному азоту (вариант В) к шестым суткам эксперимента относительное содержание всех фикобилиновых пигментов восстанавливалось практически до уровня инокулята: 3,2±0,3; 0,4±0,1; 0,3±0,1 % ОВ для В-ФЭ, R-ФЦ и АФЦ соответственно. Максимальное снижение относительного содержания отмечено для В-ФЭ (в 4–9 раз), а минимальное – для АФЦ (на 25 %). Динамика относительного содержания хлорофилла *a* при накопительном культивировании в основном коррелировала с динамикой содержания ФБП (см. рис. 2). Резкое уменьшение содержания пигментов в клетках микроводоросли в первые два дня после начала эксперимента, вероятно, можно рассматривать как метаболический сбой – ответную реакцию на одновременное скачкообразное изменение сразу нескольких факторов среды: концентрации биогенов, освещённости, рН, солёности и др. (Дробецкая, 2005). Известно, что причиной снижения клеточного уровня пигментов может быть не только деградация последних, но и угнетение пигментного синтеза на фоне ускоренного клеточного деления (Grossman, 1994), что и отмечалось в первые два дня культивирования.

Последующее снижение относительного содержания всех фикобилиновых пигментов и хлорофилла *a* при дефиците нитратного азота в среде на фоне продолжающегося активного роста культуры свидетельствует об использовании данных пигментов в качестве источника азота (Дробецкая, 2005; Лелеков, 2009; Гудвиллов, 2010). В ходе эксперимента наиболее интенсивно использовался В-ФЭ (снижение составило 90 % первоначального содержания пигмента). Фаза замедления роста при накопительном выращивании микроводоросли *P. purpureum* наступала, по-видимому, только после уменьшения относительного содержания фикобилиновых пигментов и хлорофилла *a* до некоторого физиологически критического уровня, который составляет: 0,4 % ОВ для В-ФЭ и 0,04 % ОВ для хлорофилла *a*.

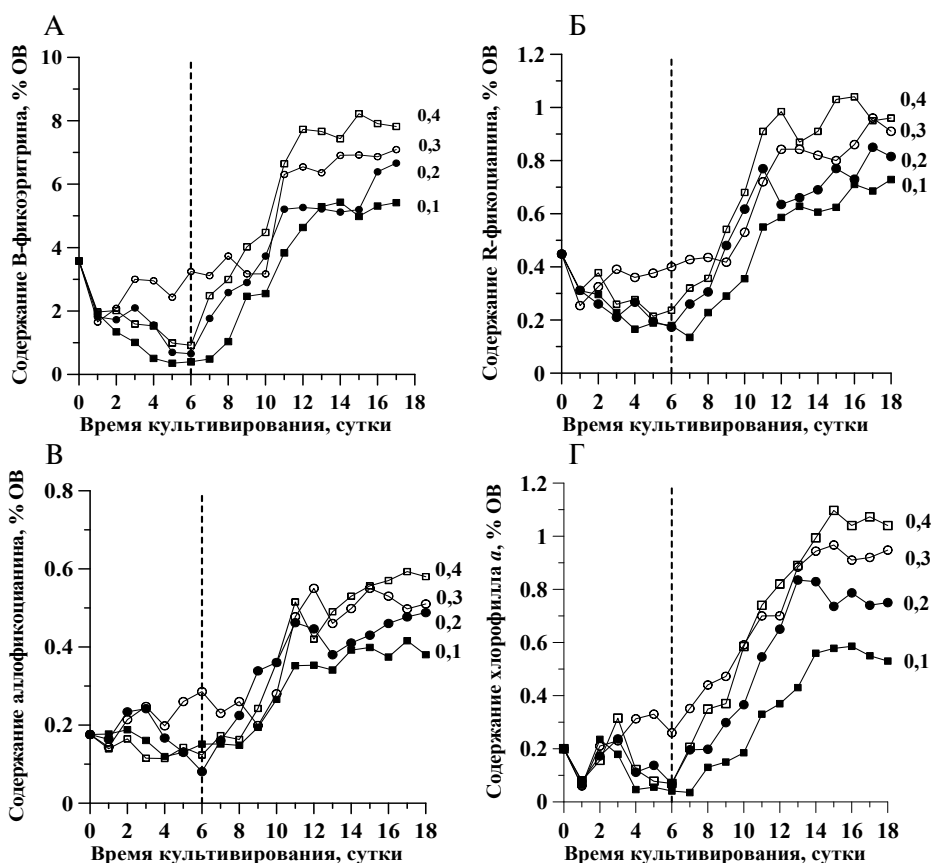


Рис. 2. Динамика относительного содержания В-фикоэритрина (А), R-фикоцианина (Б), аллофикоцианина (В) и хлорофилла *a* (Г) в клетках *Porphyridium purpureum* в накопительной культуре при различной начальной концентрации азота и квазинепрерывной культуре при различной скорости обновления среды: ● – вариант А, 0,2 сут⁻¹; ○ – вариант В, 0,3 сут⁻¹; ■ – вариант С, 0,1 сут⁻¹; □ – вариант D, 0,4 сут⁻¹; пунктирная линия – граница между накопительным и квазинепрерывным культивированием

Рост культуры осуществлялся за счёт внутренних резервов азота в клетках, что подтверждается результатами варианта опыта В, имеющего повышенную концентрацию минерального азота в среде, где на фоне продолжающегося активного роста культуры регистрировали восстановление содержания ФБП до первоначального уровня (см. рис. 2).

Недостаток азота в среде отражался не только на содержании всех типов ФБП, но и на их индексах. При этом индекс В-ФЭ/R-ФЦ для варианта В изменялся незначительно и к окончанию накопительного этапа культивирования восстанавливался до первоначального уровня (8,1) (рис. 3). Индекс В-ФЭ/АФЦ для этого же варианта к окончанию накопительного этапа культивирования не восстанавливался до первоначального уровня (11,4), однако практически соответствовал индексу при квазинепрерывном культивировании (13–14) в отсутствие лимитирования по основным биогенным элементам (см. рис. 3).

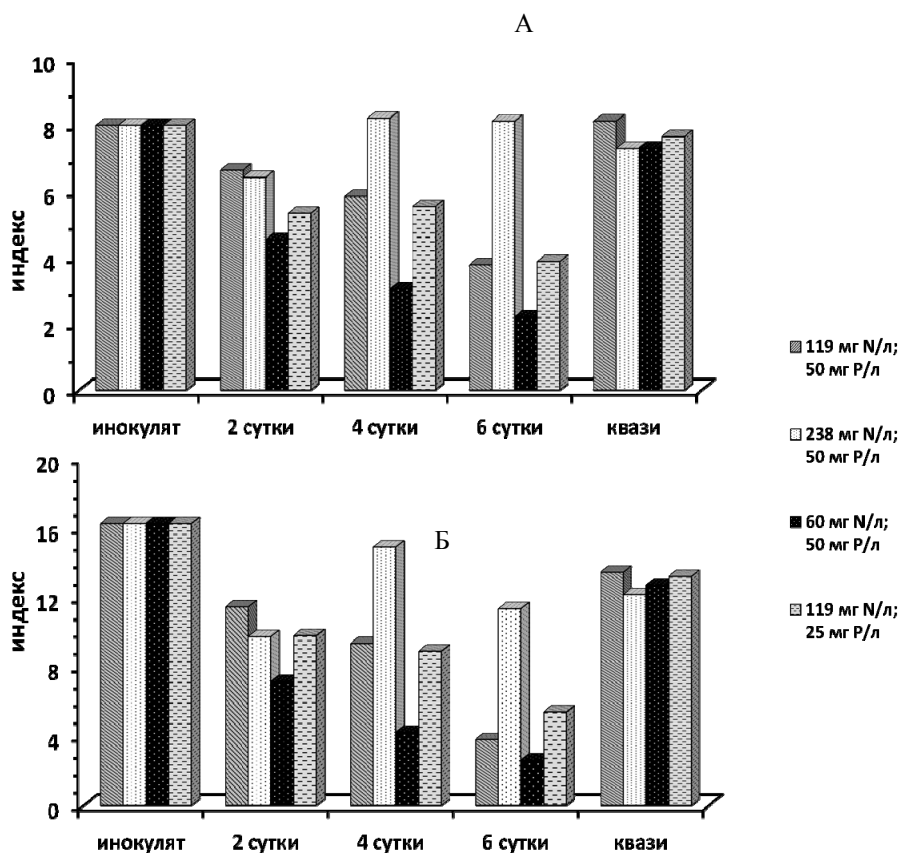


Рис. 3. Изменение индексов фикобилипротеинов в клетках *Porphyridium purpureum* при накопительном культивировании: А – индекс В-ФЭ/R-ФЦ; Б – индекс В-ФЭ/АФЦ

Для вариантов с более низкой концентрацией азота (А и С) индексы В-ФЭ/R-ФЦ и В-ФЭ/АФЦ снижались, причём их минимальные значения в последние сутки накопительного культивирования (2,2 и 2,7 для В-ФЭ/R-ФЦ и В-ФЭ/АФЦ соответственно) зарегистрированы для варианта с минимальной концентрацией минерального азота.

Уменьшение индексов В-ФЭ/R-ФЦ и В-ФЭ/АФЦ в 2–4 раза, наблюдаемое при развитии азотного дефицита у *P. purpureum* (варианты А, С и D), свидетельствует о преимущественной деградаци В-ФЭ по сравнению с R-ФЦ и АФЦ, находящимися ближе к сердцевине антенных структур, что согласуется с литературными данными об упорядоченном характере редукции фикобилисом (Yamanaka, Glazer, 1980). Содержание в клетках *P. purpureum* фотосинтетических пигментов, особенно В-ФЭ ввиду его значительной концентрации, является чувствительным индикатором истощения азота в среде, позволяющим выявить недостаток азота в среде раньше, чем по ростовым показателям. Однонаправленные изменения содержания пигментов характеризуются высокой степенью корреляции (коэффициенты корреляции для всех вариантов были близки к 0,9).

Относительное содержание пигментов в клетках *P. purpureum* при переходе к квазинепрерывному культивированию повышалось для всех вариантов опыта, что связано с изменением условий освещённости и минерального обеспечения (см. рис. 2, табл. 3).

Таблица 3

Относительное содержание пигментов в клетках *Porphyridium purpureum* при квазинепрерывном культивировании

Удельная скорость протока, сут ⁻¹	В-ФЭ	R-ФЦ	АФЦ	хл. <i>a</i>	Каротиноиды
	% ОБ				
0,1	5,25±0,37	0,70±0,08	0,40±0,06	0,57±0,05	0,24±0,04
0,2	6,42±0,27	0,81±0,07	0,48±0,08	0,76±0,05	0,29±0,03
0,3	7,27±0,45	0,98±0,11	0,52±0,07	0,95±0,10	0,36±0,04
0,4	7,63±0,75	0,98±0,09	0,51±0,07	1,02±0,07	0,37±0,04

Установлено, что с увеличением удельной скорости обновления среды от 0,1 до 0,4 сут⁻¹ относительное содержание пигментов в клетках *P. purpureum* возрастает (ФБП на 30–50 %) (см. рис. 2, табл. 3). Дополнительный статистический анализ (сравнение дисперсий выборок по критерию Фишера и средних по t-критерию Стьюдента для уровня значимости $\alpha = 0,05$) показал, что увеличения относительного содержания хлорофилла *a* и В-фикоэритрина при возрастании доли обмениваемой среды от 30 до 40 % являются значимыми ($t = 6,48 > t_{05} = 2,09$ (В-ФЭ), $t = 3,27 > t_{05} = 2,23$ (хл. *a*). Рост относительного содержания хлорофилла *a* и ФБП *P. purpureum* с увеличением протока питательной среды может

объясняется, согласно литературным данным (Fabregas et al., 1998), улучшением условий минерального обеспечения, а также удалением метаболитов культуры в процессе проведения ежесуточного обмена. Отсутствие значимых изменений содержания R-фикоцианина и аллофикоцианина при возрастании скорости обновления среды от 0,3 до 0,4 сут⁻¹ ($t = 0,16 < t_{05} = 2,09$ (R-ФЦ), $t = 0,24 < t_{05} = 2,09$ (АФЦ) свидетельствует о более низкой лабильности данных пигментов, что, по-видимому, объясняется особенностями их нахождения в антенных структурах фикобилизом и выполняемыми функциями (Yamanaka, Glezer, 1980; Algarra, Ruediger, 1993).

В эксперименте при увеличении скорости обновления среды от 0,1 до 0,4 сут⁻¹ плотность культуры снижается в 2 раза. Следовательно, удельная освещённость клеток должна увеличиться, вызывая уменьшение относительного содержания пигментов, что, как правило, объясняют протекающими адаптационными процессами (Боровков, 2008; Финенко и др., 2008; Fabregas et al., 1998; Fernandez et al., 1998), однако в эксперименте наблюдается противоположная тенденция. Известно, что к особенностям биосинтеза *P. purpureum* относится продуцирование значительных количеств полисахаридов (Fabregas et al., 1998; Singh et al., 2000), что могло нивелировать действие фактора освещённости за счёт изменения оптических свойств культуры микроводоросли.

Поскольку *P. purpureum* используют для получения фикобилиновых пигментов, рассчитана средняя продуктивность культуры микроводоросли для 6 суток накопительного культивирования и для последних 5 суток квазинепрерывного (табл. 4).

Таблица 4

Продуктивность накопительной и квазинепрерывной культуры *Porphyridium purpureum* по фикобилипротеинам

Режим культивирования, сут ⁻¹	Средняя продуктивность, мг · л ⁻¹ · сут ⁻¹		
	В-ФЭ	Р-ФЦ	АФЦ
Накопительный, (вариант опыта В)	11,7±0,6	2,3±0,2	1,3±0,2
Квазинепрерывный, 0,1	13,2±1,1	1,7±0,1	1,0±0,2
« 0,2	30,1±2,1	4,1±0,4	2,3±0,3
« 0,3	38,8±1,7	5,2±0,5	3,2±0,3
Квазинепрерывный, 0,4	37,7±2,9	4,5±0,4	3,3±0,5

Продуктивность квазинепрерывной культуры *P. purpureum* по ФБП с возрастанием скорости обновления среды от 0,1 до 0,3 сут⁻¹ увеличивалась в 3 раза, что объясняется улучшением минерального питания и удалением метаболитов в процессе обмена среды. Таким образом, интенсивное культивирование микроводоросли *P. purpureum* для получения максимальной продукции наиболее важного компонента — В-фикоэритрина необходимо осуществлять в квазинепрерывном режиме,

поскольку при накопительном выращивании после исчерпания элементов минерального питания в среде относительное содержания фиколипидов резко уменьшается (практически до нулевых значений), что вызывает снижение продуктивности культуры по пигментам (см. табл. 4).

Заключение

Культивирование *P. purpureum* в квазинепрерывном режиме имеет ряд преимуществ (по накоплению и выходу В-фикоэритрина) по сравнению с накопительным методом.

Продуктивность культуры *P. purpureum* возрастает с увеличением удельной скорости обновления среды. Наибольшая продуктивность по биомассе и фотосинтетическим пигментам реализуется в режиме 30–40 % обновления среды в сутки и достигает $0,5 \text{ г ОВ} \cdot \text{л}^{-1} \cdot \text{сут}^{-1}$ по биомассе и $40 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1} \cdot \text{сут}^{-1}$ по В-фикоэритрину.

Для исследованного вида относительное содержание пигментов при увеличении удельной скорости обновления среды возрастает на 50 % в диапазоне от $0,1$ до $0,4 \text{ сут}^{-1}$. Максимальное содержание фотосинтетических пигментов в биомассе *P. purpureum* отмечено при скорости обновления среды $0,4 \text{ сут}^{-1}$.

Продуктивность квазинепрерывной культуры *P. purpureum* по биомассе и пигментам в 1,5–3 раза выше, чем её продуктивность при накопительном выращивании, что подтверждается полученными экспериментальными данными.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Боровков А.Б. Динамика пигментов и роста микроводорослей в хемостате на примере *Dunaliella salina* Теод.: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Севастополь, 2008. – 28 с.
- Гудвилович И.Н. Влияние условий культивирования на рост и содержание фиколипидов красной микроводоросли *Porphyridium purpureum* (обзор) // Экол. моря. – 2010. – Спец. вып. 81: Биотехнол. водорослей. – С. 28–36.
- Дробецкая И.В. Влияние условий минерального питания на рост и химический состав *Spirulina platensis* (Nordst.) Geitler: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Севастополь, 2005. – 26 с.
- Ефремова Н. Разработка способов получения антиоксидантных препаратов на основе биоактивных веществ цианобактерий и микроводорослей: Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. – Кишинёв, 2009. – 29 с.
- Лелеков А.С. Моделирование роста и биосинтеза морских микроводорослей в квазинепрерывной культуре: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Севастополь, 2009. – 26 с.
- Методы физиолого-биохимического исследования водорослей в гидробиологической практике. – Киев: Наук. думка, 1975. – 247 с.

- Минюк Г.С., Дробецкая И.В., Чубчикова И.Н., Терентьева Н.В. Одноклеточные водоросли как возобновляемый биологический ресурс: обзор // Мор. экол. журн. – 2008. – 7(2). – С. 5–23.
- Стадничук И.Н. Фикобилипротеины. Биологическая химия. – М.: Мир, 1990. – 196 с.
- Судьїна О.Г., Шнюкова Э.І., Мушак П.О., Лось С.І. та ін. Біохімія червоних водоростей. – К., 2007. – 320 с.
- Тренкеніу Р.П. Ростовые и фотоэнергетические характеристики морских микроводорослей в плотной культуре: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Красноярск, 1984. – 28 с.
- Тренкеніу Р.П., Беянин В.Н. Влияние элементов минерального питания на продуктивность водоросли *Platymonas viridis* Rouch. // Биол. моря. – 1979. – 51. – С. 41–46.
- Уильямс У. Дж. Определение анионов – М.: Химия, 1982. – С. 134–136.
- Упитис В.В., Пакалне Д.С., Шулице И.Ф. Оптимизация минерального питания красной морской водоросли *Porphyridium cruentum* // Изв. АН Латв. ССР. – 1989. – 505(8). – С. 95–104.
- Финенко З.З., Чурилова Т.Я., Акимов А.И. Пигменты микроводорослей // Микроводоросли Чёрного моря: проблемы сохранения биоразнообразия и биотехнологического использования. – Севастополь, 2008. – С. 301–319.
- Abd El-Baky H. Over production of phycocyanin pigment in blue green alga *Spirulina* sp. and its inhibitory effect on growth of Ehrlich ascites carcinoma cells // J. Med. Sci. – 2003. – 3(4). – P. 314–324.
- Algarra P., Ruediger W. Acclimation processes in the light harvesting complex of the red alga *Porphyridium purpureum* (Bory) Drew et Ross, according to irradiance and nutrient availability // Plant. Cell. Environ. – 1993. – 16(2). – P. 149–159.
- Borowitzka M.A. Microalgae as source of pharmaceutical and other biologically active compounds // J. Appl. Algol. – 1995. – 7. – P. 3–15.
- Fabregas J., Garcia D., Morales E. et al. Renewal rate of semicontinuous cultures of the microalga *Porphyridium cruentum* modifies phycoerythrin, exopolysaccharide and fatty acid productivity // J. Ferment. Bioeng. – 1998. – 86(5). – P. 477–481.
- Fernandez A.F.G., Camacho G.F., Perez S.J.A. et al. Modeling of biomass productivity in tubular photobioreactors for microalgal cultures: Effects dilution rate, tube diameter and solar irradiance // Biotechnol. Bioeng. – 1998. – 58. – P. 605–616.
- Glazer A. N., Hixson C. S. Subunit structure and chromophore composition of rhodophyтан phycoerythrins *Porphyridium cruentum* B-phycoerythrin and b-phycoerythrin // J. Biol. Chem. – 1977. – 252(1). – P. 32–42.
- Grossman A. M., Schaefer R., Chiang G. G., Collier J. L. The responses of cyanobacteria to environmental conditions: light and nutrients // Molecular biology of cyanobacteria. – Kluwer: Acad. Publ., 1994. – P. 641–675.
- Hirata T., Tanaka M., Ooike M. et al. Antioxidant activities of phycocyanobilin prepared from *Spirulina platensis* // J. Appl. Phycol. – 2000. – 12(3). – P. 435–439.
- Jahn W., Steinbiss J., Zetsche K. Light intensity adaptation of the phycobiliprotein content of the red alga *Porphyridium* // Planta. – 1984. – 16(6). – P. 536–539.

- Kathiresan S., Sarada R., Bhattacharya S., Ravishankar A. Culture media optimization for growth and phycoerythrin production from *Porphyridium purpureum* // Biotech. and Bioengin. – 2006. – **96**. – P. 456–463.
- Kopecky J., Riederer M., Pfuendel E. *Porphyridium purpureum* (formerly *P. cruentum*) contains beta-carotene but no alpha-carotene // Arch. Hydrobiol. (Suppl.) (Algol. Stud.). – 2002. – **142**. – P. 189–195.
- Singh S., Arad S., Richmond A. Extracellular polysaccharide production in outdoor mass cultures of *Porphyridium* sp. in flat plate glass reactors // J. Appl. Phycol. – 2000. – **12**. – P.269–275.
- Xiao H., Xie Z., Guo J. Effects of five different nitrogen resources on *Porphyridium purpureum* growth // J. Fujian Teach. Univ. (Nat. Sci. Ed.) / Fujian Shifan Daxue Xuebao. – 2001. – **17**(2). – P. 78–80.
- Yamanaka G., Glazer A.N. Dynamic aspects of phycobilisome structure. Phycobilisome turnover during nitrogen starvation in *Synechococcus* sp. // Arch. Microbiol. – 1980. – **124**. – P. 39–47.

Поступила 13 марта 2013 г.

Подписала в печать Е.И. Шнюкова

I.N. Gudvilovich, A.B. Borovkov

A.O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas, NAS of Ukraine,
2, Nakhimov Prosp., 99011 Sevastopol, Ukraine
e-mail: gudirina2008@yandex.ru, spirit2000@ua.fm

PRODUCTION CHARACTERISTICS OF THE MICROALGAE *PORPHYRIDIUM PURPUREUM* (BORY) ROSS. UNDER BATCH AND SEMICONTINUOUS CULTIVATION

It is shown that cultivation of *Porphyridium purpureum* using semicontinuous method for optimal selection of key parameters allows to obtain stably high productivity of this species both by biomass, and by its a valuable components in comparison with other modes. Production characteristics of semicontinuous culture *P. purpureum* has been defined. Productivity of *P. purpureum* increases with the growth of specific flow rate of the medium. The highest productivity of biomass and pigments is realized in the range of flow rate of the medium 0.3–0.4 day⁻¹, and reaches: of biomass – 0.5 g AFDW · l⁻¹ · day⁻¹ and of B-phycoerythrin – 40 mg · l⁻¹ · day⁻¹. The type of change of the pigments content *P. purpureum* has been determined under semicontinuous cultivation; the possibility of regulation of pigments content with the help of varying the specific flow rate has been shown. The relative content of pigments in the biomass of *P. purpureum* in the range of specific flow rate of the medium 0.1–0.4 day⁻¹ increases by 50 %. The maximum pigment content in the biomass of *P. purpureum* is noted at the specific flow rate 0.3–0.4 day⁻¹. Productivity of semicontinuous culture *P. purpureum* by biomass and pigments is 1.5–3 times higher than its productivity by batch cultivation, which is confirmed by experimental data.

Key words: *Porphyridium purpureum*, batch culture, semicontinuous culture, the density of the culture, phycobiliproteins, productivity.