

УДК 582.232:[581.143+577.122.5]

РОСТОВЫЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ КВАЗИНЕПРЕРЫВНОЙ КУЛЬТУРЫ *Dunaliella salina*

А. Б. Боровков
И. Н. Гудвилович

Институт биологии южных морей НАН Украины, Севастополь

E-mail: spirit2000@ua.fm

Получено 21.03.2011

Исследована динамика плотности, содержания хлорофиллов *a* и *b*, суммарных каротиноидов и протеина квазинепрерывной культуры *Dunaliella salina*. Установлен характер изменения содержания пигментов и протеина *D. salina* в квазинепрерывной культуре и показана возможность регулирования содержания пигментов и протеина с помощью варьирования удельной скорости протока среды. Максимальное содержание фотосинтетических пигментов в биомассе *D. salina* определено при удельной скорости протока среды $0,14 \text{ сут}^{-1}$, а с увеличением скорости от $0,14$ до $0,42 \text{ сут}^{-1}$ оно снижается на 30%. Рассчитаны продукционные характеристики интенсивной культуры дуналиеллы. Выявлено, что продуктивность культуры *D. salina* при накопительном выращивании в 1,2–2,1 раза ниже, чем при квазинепрерывном. Наибольшая продуктивность по биомассе, пигментам и протеину реализуется при квазинепрерывном культивировании с удельной скоростью протока $0,32 \text{ сут}^{-1}$ и достигает: по биомассе — $0,45 \text{ г ОВ (органического вещества) \cdot л}^{-1} \cdot \text{сут}^{-1}$, суммарным каротиноидам — $4 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1} \cdot \text{сут}^{-1}$, протеину — $0,25 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1} \cdot \text{сут}^{-1}$. Проведено сравнение полученной продуктивности по каротиноидам и биомассе *D. salina* для лабораторных условий с продуктивностью культуры в промышленных условиях предприятий Украины и мира. Определены направления исследовательских работ для повышения продуктивности культуры *D. salina* в производственных условиях.

Ключевые слова: *Dunaliella salina*, квазинепрерывное культивирование, пигменты, продуктивность.

В научно-исследовательских целях обычно применяют периодическую культуру водорослей в связи с простотой и небольшой трудоемкостью таких экспериментов [1]. Имеющиеся в литературе данные по динамике фотосинтетических пигментов в клетках микроводорослей относятся в основном к накопительным культурам. Исследования квазинепрерывных культур достаточно редки [2, 3], в то время как протекающие в природе процессы по своей сути ближе к квазинепрерывным культурам, чем к накопительным. Возможности квазинепрерывной культуры (особенно плотной) изучены слабо, а полученные данные невозможно сопоставить из-за отсутствия работ, в которых накопительное и квазинепрерывное культивирование микроводорослей осуществлялось бы при аналогичных внешних условиях.

Менее распространенный квазинепрерывный метод культивирования обладает рядом положительных свойств: возможностью стабилизировать все характеристики культуры, высокой воспроизводимостью

результатов с любой заданной точностью, более простым математическим аппаратом по сравнению с периодической культурой [4]. Непрерывный метод позволяет поддерживать монокультуру в нестерильных условиях производства альгологически чистой и при достаточно небольших культуральных объемах в условиях лаборатории ежедневно получать необходимое количество биомассы для анализов.

Зеленая галофильная микроводоросль *Dunaliella salina* культивируется в промышленных масштабах в ряде стран начиная с 50-х годов прошлого века благодаря уникальной способности накапливать в клетках более 10% β -каротина [5, 6]. Тем не менее, проблема подбора режимов культивирования с целью увеличения выхода и оптимизации состава получаемой биомассы остается актуальной донныне.

Целью работы было исследование ростовых и биохимических показателей интенсивной квазинепрерывной культуры *Dunaliella salina*.

Материалы и методы

Объект исследования — зеленая галофильная микроводоросль *Dunaliella salina* Teod. (штамм IBSS-2) из коллекции культур ИнБЮМ НАН Украины.

Установка для культивирования микроводорослей состояла из четырех стеклянных фотобиореакторов плоскопараллельного типа объемом 6 л с рабочей толщиной 5 см, осветителя — лампы ДРЛ-700, термостабилизирующей и газораспределительной систем. Объем суспензии в каждом культиваторе поддерживался на уровне 5 л. Водоросли выращивали на модифицированной питательной среде Тренкеншу [7], для приготовления которой использовали стерилизованную морскую воду. В процессе выращивания культура непрерывно снабжалась газовой смесью с концентрацией углекислоты 3%, рН культуральной среды составляла 6–7 единиц. Освещенность рабочей поверхности культиваторов — 80 Вт/м², температура — 26–28 °С.

Во время эксперимента культуру *D. salina* выращивали квазинепрерывным способом. Предварительно было проведено накопительное культивирование этой микроводоросли. Для каждого культиватора удельную скорость протока среды (ω) установили в соответствии с расчетными ростовыми характеристиками накопительных кривых (в рамках линейной фазы роста) [8]. Для варианта А удельная скорость протока составляла $\omega = 0,12 \text{ сут}^{-1}$, варианта В $0,14 \text{ сут}^{-1}$, варианта С $0,32 \text{ сут}^{-1}$, варианта D $0,42 \text{ сут}^{-1}$. Такой режим поддерживали до достижения культурой стационарного динамического равновесия и в течение 6 сут в этом состоянии.

Плотность культуры определяли объемно-весовым методом [9]. Содержание хлорофиллов *a* и *b*, суммарных каротиноидов и общего протеина определяли согласно методикам [10, 11]. Содержание нитратного азота в среде и фосфора в виде фосфатов устанавливали потенциометрическим методом и методом Морфи-Райли, соответственно [12]. Данные по нитратам и фосфатам в статье не приводятся, поскольку они подробно описаны в ранней работе [12]. Данные для накопительной культуры представляют средние значения для четырех биологических повторностей, а для квазинепрерывной культуры — средние за 6 сут стационарного динамического равновесия. Число аналитических повторностей равнялось трем. Рассчитывали средние арифметические (\bar{x}), 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 (если дисперсии выборок существенно не отличаются) или по приближенному *t*-критерию (если дисперсии выборок отличаются значительно). Все расчеты проводили для уровня значимости $\alpha = 0,05$.

Результаты и обсуждение

На предварительном этапе проводили накопительное культивирование, к завершению которого плотность культуры составила 4–4,3 г ОВ·л⁻¹ (грамм органического вещества на литр). При квазинепрерывном культивировании плотность культуры *D. salina* изменялась в зависимости от заданных скоростей протока среды и достигала стационарного динамического равновесия на 5–6-е сутки (рис. 1).

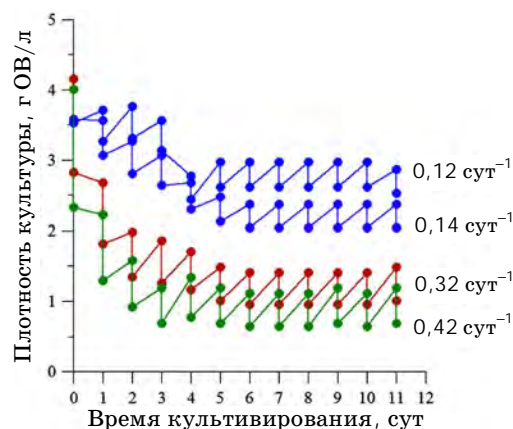


Рис. 1. Динамика плотности квазинепрерывной культуры *Dunaliella salina* Teod. при различной скорости протока среды (сут⁻¹)

Сравнение плотности культуры при различных режимах свидетельствует о снижении уровня плотности культуры при стационарном динамическом равновесии с увеличением ежесуточного обмена (рис. 1). Это явление обусловлено постоянством максимальной продуктивности культуры, поскольку культивирование осуществлялось в пределах плотности культуры, характерной для линейного роста накопительной культуры [4, 7].

При удельных скоростях протока $0,12$ и $0,14 \text{ сут}^{-1}$ концентрация нитратного азота, измеряемая перед проведением ежесуточного обмена, была близка к нулю [12].

Для характеристики изменений физиологического состояния культуры *D. salina* при различных режимах непрерывного культивирования помимо определения ростовых показателей исследовали динамику содержания хлорофиллов *a* и *b*, каротиноидов и протеина в биомассе.

При квазинепрерывном культивировании наблюдали изменение и стабилизацию относительного содержания фотосинтетических пигментов и протеина на различных уровнях в зависимости от установленной удельной скорости протока среды.

Содержание пигментов в клетках микроводорослей зависит от многих факторов: рН, температуры, минерального и углеродного питания, световых и других условий культивирования клеток [13–15]. Важнейшим из этих факторов является действующий и поглощаемый световой поток.

Воздействующий свет служит для водорослей не только источником энергии для метаболических процессов, протекающих в клетке, но и регулятором этих процессов. Механизм явления световой адаптации далеко не ясен, однако многочисленные исследования свидетельствуют об однозначном действии света на пигменты: с ростом интенсивности света содержание фотосинтетических пигментов в единице биомассы уменьшается. Такая реакция пигментного аппарата микроводорослей объясняется тем, что под действием интенсивного света наравне с синтезом происходит деструктивное фотоокисление пигментов [7, 15, 16].

При различной удельной скорости роста (протока среды) в квазинепрерывной культуре на фоне устанавливающегося динамического равновесия с неодинаковой плотностью культуры удельная освещенность клеток микроводорослей различна. Поскольку плотность культуры уменьшается с увеличением скорости протока среды, и при этом увеличивается удельная освещенность, то в соответствии с многочисленными экспериментальными данными содержание фотосинтетических пигментов в клетках должно уменьшаться (при условии обеспеченности культуры биогенными элемента-

ми). В таком случае максимальное содержание пигментов должно было наблюдаться при минимальной скорости протока (при отсутствии лимитирования по минеральным элементам питания) в исследованном диапазоне. Однако на практике такого не наблюдается; максимальные значения для всех фотосинтетических пигментов получены нами при удельной скорости протока $0,14 \text{ сут}^{-1}$ (рис. 2).

Известно, что на содержание азотсодержащих компонентов, прежде всего протеина и хлорофилла *a*, значительное влияние оказывает концентрация основных минеральных элементов питания, особенно азота [15, 17]. По данным [12], в этом эксперименте в питательной среде перед 12%-м обменом среды концентрация минерального азота и фосфора близка к нулю.

При увеличении доли обмениваемой среды от 12 до 14% наблюдалось увеличение относительного содержания всех исследованных пигментов [$t = 8,35 > t_{05} = 2,07$ (Хл *a*); $t = 19,28 > t_{05} = 2,04$ (Хл *b*); $t = 4,14 > t_{05} = 2,09$ (каротиноиды)] и статистически значимое увеличение протеина на 25% ($t = 11,67 > t_{05} = 2,15$) (рис. 2) на фоне практически одинаковой продуктивности культуры по биомассе, что, по-видимому, объясняется улучшением условий минерального обеспечения культуры микроводоросли.

С дальнейшим увеличением скорости протока относительное содержание протеина в клетках микроводорослей существенно не изменялось, что, по-видимому, связано с отсутствием лимитирования по элементам минерального питания. Относительное содержание хлорофиллов *a* и *b*, а также суммарных каротиноидов снижалось в среднем на 25–30% с увеличением скорости протока до $0,42 \text{ сут}^{-1}$ по сравнению с относительным содержанием этих пигментов при $0,14 \text{ сут}^{-1}$ (рис. 2).

При невысоких скоростях протока среды, когда скорость синтеза фотосинтетических

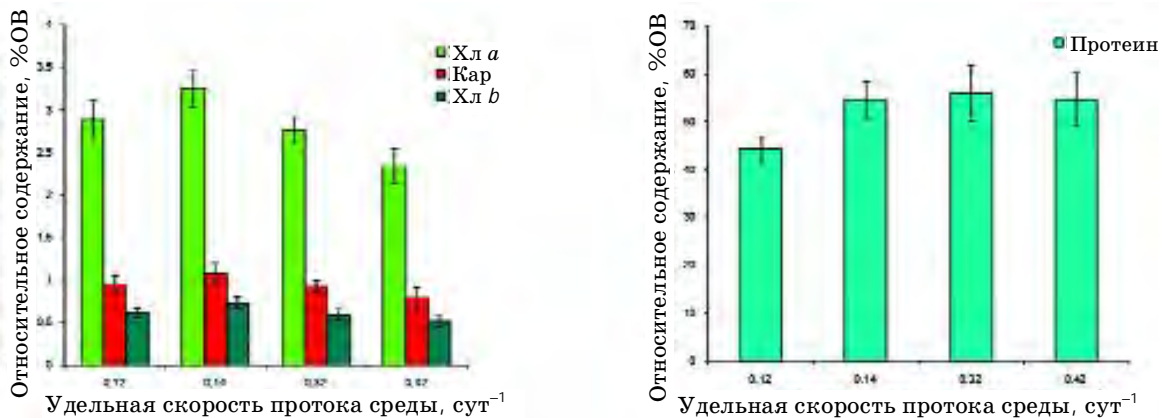


Рис. 2. Зависимость относительного содержания пигментов и протеина в клетках микроводоросли *Dunaliella salina* от удельной скорости протока среды в квазинепрерывной культуре

пигментов и протеина культуры *D. salina* ограничена количеством минеральных элементов в процессе осуществления обмена, содержание пигментов и протеина определяется концентрацией биогенов, вносимых в суспензию в результате обмена. При высоких удельных скоростях протока ($0,32$ и $0,42 \text{ сут}^{-1}$) культура обеспечена и азотом, и фосфором [12], а вероятным регулирующим фактором является интенсивность освещения, что согласуется с данными литературы о понижении относительного содержания хлорофилла *a* с ростом удельной освещенности клеток [7, 15, 16]. Используемый в эксперименте режим культивирования характеризуется постоянством и равенством удельных скоростей роста водорослей, синтеза и деструкции биохимических компонентов клеток при установившемся стационарном динамическом равновесии [4]. При более высокой скорости протока среды удельные скорости роста, синтеза и деструкции будут, соответственно, выше. Общеизвестно, что при увеличении скорости роста микроводорослей содержание хлорофилла *a* также увеличивается [7, 15, 16]. Таким образом, при условиях эксперимента, способствующих установлению более высокой скорости синтеза пигментов (а соответственно, и содержания в клетках), наблюдаемое снижение содержания пигментов свидетельствует об увеличении скорости деструкции пигментов. В научной литературе присутствует и другая точка зрения на происходящие процессы, согласно которой снижение относительного содержания хлорофилла *a* обусловлено адаптационными процессами в клетках водорослей за счет снижения скорости синтеза специфических протеинов и самих пигментов. Но в условиях с заведомо более высокими скоростями синтеза хлорофиллов по сравнению с контрольными использование данного объяснения проблематично.

Относительное содержание протеина в клетках *D. salina* не зависит от удельной скорости протока среды при отсутствии лимитирования по минеральному питанию, в отличие от фотосинтетических пигментов, содержание которых снижается в указанном диапазоне.

Таким образом, показана принципиальная возможность регулирования относительного содержания хлорофиллов *a* и *b*, а также протеина в клетках *D. salina* с помощью изменения удельной скорости протока среды. В случае снятия лимитирования по биогенам при низких скоростях протока относительное содержание пигментов в клетках микроводоросли максимально, но при дальнейшем уве-

личении скорости снижается, что, возможно, объясняется усилением процессов фотодеструкции либо адаптационными процессами.

На относительное содержание протеина в клетках *D. salina* значительное влияние оказывает только концентрация биогенов, поступающих в культуру при обмене; в отсутствие лимитирования по минеральному азоту содержание протеина достигает максимальных значений и существенно не зависит от удельной скорости протока среды.

Как известно, азот не входит в состав молекул каротиноидов. Тем не менее прослеживается определенная связь между уровнем накопления суммарных каротиноидов (рис. 2) и условиями азотного обеспечения, что, возможно, отражает структурные и функциональные взаимоотношения между каротиноидами и другими компонентами светособирающей системы. Согласно имеющимся в литературе сведениям, содержание определенной части каротиноидов, относящихся к фотосинтетически активным, изменяется пропорционально содержанию хлорофилла *a*, а повышение относительного содержания каротиноидов в клетках при повышенной облученности происходит лишь за счет увеличения доли фотопротекторов [18].

В проведенном эксперименте при всех заданных режимах протока среды динамика относительного содержания каротиноидов соответствовала динамике содержания хлорофиллов, однако, в отличие от последних, различия между содержанием каротиноидов при исследованных скоростях протока среды были статистически недостоверными. Следовательно, для получения биомассы микроводоросли *D. salina* с максимальным содержанием фотосинтетических пигментов и протеина для данных условий и исследованного диапазона удельных скоростей протока оптимальной является скорость $0,14 \text{ сут}^{-1}$.

В промышленных условиях большое значение имеет продуктивность культуры, которая может существенно изменяться при использовании различных режимов культивирования.

Для сравнения двух методов (периодического и квазинепрерывного) рассчитана средняя продуктивность *D. salina* для квазинепрерывного (в условиях стационарного динамического равновесия) и накопительного культивирования за 11 дней (до начала стационарной фазы роста) [8] для описанной системы культивирования микроводорослей (табл.).

Продуктивность периодического и квазинепрерывного методов культивирования при низких удельных скоростях протока среды близка, но ниже, чем при более высоких скоростях протока (табл.). Эта тенденция харак-

Продуктивность культуры *Dunaliella salina* по биомассе, пигментам и протеину при накопительном и квазинепрерывном режимах культивирования

Удельная скорость протока, сут ⁻¹	Продуктивность*				
	Биомасса, г ОВ·л ⁻¹ ·сут ⁻¹	Хл <i>a</i> , мг·л ⁻¹ ·сут ⁻¹	Хл <i>b</i> , мг·л ⁻¹ ·сут ⁻¹	Кр, мг·л ⁻¹ ·сут ⁻¹	Протеин, мг·л ⁻¹ ·сут ⁻¹
0**	0,33±0,015	8,56±0,860	2,30±0,220	3,17±0,310	119,7±11,98
0,12	0,35±0,011	9,61±0,690	2,20±0,205	3,17±0,235	157,9±10,11
0,14	0,33±0,009	10,82±0,691	2,48±0,217	3,43±0,372	181,8±13,09
0,32	0,46±0,024	12,42±0,626	2,72±0,218	4,15±0,379	252,7±23,46
0,42	0,48±0,036	11,22±1,022	2,39±0,245	3,96±0,295	263,5±24,42

*Хл *a* — хлорофилл *a*; Хл *b* — хлорофилл *b*; Кр — суммарные каротиноиды.

** 0 — накопительный режим культивирования.

терна для продуктивности культуры не только по биомассе, но и для всех исследованных фотосинтетических пигментов и протеина.

Квазинепрерывное культивирование *D. salina* происходило в условиях линейного роста, когда продуктивность в соответствии с теорией роста микроводорослей [4] должна быть одинаковой и максимальной. Поэтому наблюдающиеся на практике отклонения (табл.) можно объяснить происходящими адаптационными и автоселекционными процессами, а также лимитом биогенных элементов при невысоких удельных скоростях протока среды.

Снижение продуктивности культуры *D. salina* по пигментам на 10–15% с увеличением скорости протока среды от 0,32 до 0,42 сут⁻¹ является статистически значимым [$t = 5,81 > t_{05} = 2,07$ (Хл *a*); $t = 5,07 > t_{05} = 2,07$ (каротиноиды)] и может быть связано с усиливающимися процессами фотодеструкции пигментов при росте облученности с уменьшением плотности культуры. Это подтверждается отсутствием аналогичной динамики для продуктивности биомассы и протеина.

Экспериментально показано, что квазинепрерывный метод с удельной скоростью протока среды не менее 0,32 сут⁻¹ (для исследованного диапазона) обеспечивает максимальные продукционные характеристики культуры *D. salina* (табл.) по сравнению с другими рассмотренными режимами культивирования.

Установленная в опыте продуктивность культуры *D. salina* для закрытого фотобиореактора составляет 0,46 г ОВ·л⁻¹·сут⁻¹, или 46 г ОВ·м⁻²·сут⁻¹, что соответствует получению на биотехнологическом производстве 46 г органического вещества биомассы с 1 м освещаемой поверхности в сутки. В то же время для условий реального производства на территории Украины продуктивность культуры *D. salina* в открытых фотобиореакторах составляла 3,6 г ОВ·м⁻²·сут⁻¹ [19]. Столь большая разница может объясняться действием различных факторов: колебания

дневной освещенности; отсутствие освещения ночью; фотоингибирующее действие солнечного света в полдень; суточные колебания температуры; неэффективное поглощение углекислого газа культурой. В отличие от промышленных условий, в лабораторных системах все эти параметры стабилизированы.

Для открытых систем культивирования *D. salina* в мире получены, в частности, такие показатели продуктивности: 1,5 г ОВ·м⁻²·сут⁻¹ — Испания, 2 г ОВ·м⁻²·сут⁻¹ — Израиль [20]. Эти цифры близки к значениям, полученным на территории Украины, что свидетельствует об общем характере действия факторов, снижающих продуктивность культуры. Эта закономерность подтверждается тем, что в закрытых системах за рубежом также получены высокие значения продуктивности *D. salina*: 20–70 г ОВ·м⁻²·сут⁻¹ [20].

Следует отметить, что некоторые зарубежные авторы сознательно завышают продуктивность культуры, делая расчет не на площадь освещаемой поверхности культиватора, а на площадь поверхности земли, которую занимает установка для культивирования; либо делая расчет на вес не абсолютно сухой биомассы, а воздушно сухой или даже сырой [20]. Таким образом они получают продуктивность свыше 100 г ОВ·м⁻²·сут⁻¹. Также необходимо отметить, что использование вертикальных фотобиореакторов будет ограничиваться пространственным фактором, поскольку возможное затенение соседних установок при непродуманном размещении повлечет за собой снижение продуктивности культуры микроводорослей.

Существующие производства обеспечивают продуктивность культуры *D. salina* порядка 2–4 г ОВ·м⁻²·сут⁻¹, что соответствует 0,2–0,4 г·м⁻²·сут⁻¹ β-каротина при его содержании в биомассе 10%. При успешном решении технических задач по удешевлению систем стабилизации условий роста культуры микроводоросли ее продуктивность можно будет поднять на порядок — до 4 г·м⁻²·сут⁻¹ β-каротина.

Таким образом, на основании полученных данных по динамике плотности культуры *D. salina*, динамике фотосинтетических пигментов и протеина показано, что ее культивирование в квазинепрерывном режиме на питательной среде Тренкеншу имеет ряд преимуществ по сравнению с традиционно применяющимся накопительным методом. Показана принципиальная возможность регулирования относительного содержания пигментов и протеина при квазинепрерывном культивировании с помощью варьирования удельной скорости протока среды. С увеличением скорости протока среды до уровня снятия лимитирования по биогенным элементам относительное содержание пигментов в клетках микроводоросли увеличивается до максимальных значений, однако при дальнейшем увеличении скорости протока снижается, что объясняется усиливающимися процессами фотодеструкции. Существенное влияние на относительное содержание протеина оказывает только концентрация биогенов, поступающих в культуру в процессе обмена; при отсутствии лимитирования по минеральному азоту содержание протеина достигает максимальных значений и существенно не зависит от

удельной скорости протока. Удельная скорость протока среды, обеспечивающая наибольшее для данных условий накопление хлорофиллов *a* и *b*, а также суммарных каротиноидов, составляет $0,14 \text{ сут}^{-1}$.

Наибольшая продуктивность по биомассе, пигментам и протеину реализуется для исследованного вида при ежесуточном обмене среды 32% и достигает: по биомассе — $0,45 \text{ г ОВ л}^{-1} \cdot \text{сут}^{-1}$, суммарным каротиноидам — $4 \text{ мг л}^{-1} \cdot \text{сут}^{-1}$, протеину — $0,25 \text{ г л}^{-1} \cdot \text{сут}^{-1}$. Средняя продуктивность при накопительном выращивании в 1,2–2,1 раза ниже. Высокая скорость роста, достигнутая при квазинепрерывном культивировании, позволяет рекомендовать данный режим для получения биомассы *D. salina* на 1-м этапе двухстадийного выращивания, направленного на получение ценного коммерческого продукта — β -каротина.

Проведенное сравнение полученной продуктивности по каротиноидам и биомассе *D. salina* для лабораторных условий с продуктивностью культуры в промышленных условиях предприятий Украины и мира позволило определить направления исследовательских работ для повышения продуктивности культуры *D. salina* в производственных условиях.

ЛИТЕРАТУРА

1. Геворгиз Р. Г., Боровков А. Б. Динамика биомассы *Dunaliella salina* в условиях непрерывного культивирования // Экология моря. — 2005. — Вып. 67. — С. 35–37.
2. Garcia-Gonzalez M., Moreno J., Manzano J. C. et al. Production of *Dunaliella salina* biomass rich in 9-cis- β -carotene and lutein in a closed tubular photobioreactor // J. Biotechnol. — 2005. — V. 115. — P. 81–90.
3. Zhu Y. H., Jiang J. G. Continuous cultivation of *Dunaliella salina* in photobioreactor for the production of β -carotene // Eur. Food Res. Technol. — 2008. — V. 227. — P. 953–959.
4. Тренкеншу Р. П. Простейшие модели роста микроводорослей II. Квазинепрерывная культура // Экология моря. — 2005. — Вып. 67. — С. 98–110.
5. Масюк Н. П., Посудин Ю. И., Лилицкая Г. Г. Фотодвижение клеток *Dunaliella* Teod. (Dunaliellales, Chlorophyceae, Viridiplantae). — К.: Академперіодика, 2007. — 264 с.
6. Ben-Amotz A., Avron M. The potential use of *Dunaliella* for the production of glycerol, β -carotene and high protein feed // Biosaline Research: A Look to the Future: Plenum Publ. Corp., San-Pietro. — New York, 1982. — P. 207–214.
7. Тренкеншу Р. П. Ростовые и фотоэнергетические характеристики морских микроводорослей в плотной культуре: Автореф. дис. ... канд. биол. наук / Ин-т биофиз., Москва, 1984. — 28 с.
8. Лелеков А. С., Гудвилович И. Н. Продукционные характеристики роста и биосинтеза квазинепрерывной культуры зелёной микроводоросли *Dunaliella salina* Teod. // Экология моря. — 2010. — Спец. Вып. 80: Биотехнология водорослей. — С. 59–66.
9. Тренкеншу Р. П., Белянин В. Н. Влияние элементов минерального питания на продуктивность водоросли *Platymonas viridis* Rouch. // Биология моря. — 1979. — № 51. — С. 41–46.
10. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. — 1951. — V. 193. — P. 265–275.
11. Wettstein D. Chlorophyll-letale und der submikroskopische Formwechsel der Plastiden // Exp. Cell Res. — 1957. — V. 12, N 3. — P. 427–506.
12. Горбунова С. Ю., Лелеков А. С., Боровков А. Б. Динамика азота и фосфора в среде при интенсивном культивировании микроводоросли *Dunaliella salina* Teod. // Экология моря. — 2007. — Вып. 74. — С. 21–24.
13. Мурадян Е. А. Влияние экстремально высокой концентрации CO_2 на функциональное состояние фотосинтетического аппарата и обмен липидов *Dunaliella salina*: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. — Москва, 2003. — 27 с.
14. Ben-Amotz A. Effect of irradiance and nutrient deficiency on the chemical composition of *Dunaliella bardawil* Ben Amotz and Avron (Volvocales, Chlorophyta) // J. Plant. Physiol. — 1987. — V. 131. — P. 479–487.

15. Finenko Z. Z., Hoepffner N., Williams R., Piontkovski S. A. Phytoplankton carbon to chlorophyll a ratio: Response to light, temperature and nutrient limitation // Мор. экол. журн. — 2003. — Т. 2, № 2. — С. 40–64.
16. Боровков А. Б. Математическая модель светозависимого содержания пигментов в клетках микроводорослей для стационарного динамического равновесия хемотратной культуры // Экология моря. — 2010. — Спец. вып. 80: Биотехнология водорослей. — С. 17–24.
17. Дробецкая И. В. Влияние условий минерального питания на рост и химический состав *Spirulina platensis* (Nordst.) Geitler: Автореф. дис. ... канд. биол. наук.: 03.00.17. / ИнБЮМ, 2005. — 26 с.
18. Финенко З. З., Чурилова Т. Я., Акимов А. И. Пигменты микроводорослей // Микроводоросли Чёрного моря: проблемы сохранения биоразнообразия и биотехнологического использования / Под ред. Ю. Н. Токарева, З. З. Финенко, Н. В. Шадрин. — Там же, 2008. — С. 301–319.
19. Тренкеншу Р. П., Геворгиз Р. Г., Боровков А. Б. Основы промышленного культивирования Дуналиеллы солоноводной (*Dunaliella salina* Teod.). — Севастополь: ЭКОСИ-Гидрофизика, 2005. — 103 с.
20. Lee Y. K. Microalgae mass culture system and methods: Their limitation and potential // J. Appl. Phycol. — 2001. — V. 13. — P. 307–315.

РОСТОВІ ТА БІОХІМІЧНІ ПОКАЗНИКИ КВАЗІБЕЗПЕРЕРВНОЇ КУЛЬТУРИ

Dunaliella salina

А. Б. Боровков, І. М. Гудвілович

Інститут біології південних морів
НАН України, Севастополь

E-mail: spirit2000@ua.fm

Досліджено динаміку щільності, вмісту хлорофілів *a* і *b*, сумарних каротиноїдів і протеїну квазібезперервної культури *Dunaliella salina*. Виявлено характер зміни вмісту пігментів і протеїну *D. salina* в квазібезперервній культурі й показано можливість регулювання вмісту пігментів і протеїну за допомогою варіювання швидкості протоку середовища. Максимальний вміст фотосинтетичних пігментів у біомасі *D. salina* відзначено за швидкості протоку середовища 0,14 доб⁻¹, а за збільшенням питомої швидкості протоку середовища від 0,14 до 0,42 доб⁻¹ він знижується на 30%. Визначено продукційні характеристики інтенсивної культури дуналиєли. Встановлено, що продуктивність культури *D. salina* за накопичувального вирощування в 1,2–2,1 раза нижче, ніж за квазібезперервного. Найбільша продуктивність за біомасою, пігментами і протеїном реалізується за квазібезперервного культивування з питомою швидкістю протоку середовища 0,32 доб⁻¹ і досягає: за біомасою — 0,45 г ОР (органічної речовини)·л⁻¹·доб⁻¹, сумарними каротиноїдами — 4 мг·л⁻¹·доб⁻¹, протеїном — 0,25 г·л⁻¹·доб⁻¹. Проведено порівняння отриманої продуктивності за каротиноїдами і біомасою *D. salina* для лабораторних умов з продуктивністю культури в промислових умовах підприємств України і світу. Визначено напрями дослідницьких робіт для підвищення продуктивності культури *D. salina* у виробничих умовах.

Ключові слова: *Dunaliella salina*, квазібезперервна культура, пігменти, продуктивність.

GROWTH AND BIOCHEMICAL PARAMETERS OF *Dunaliella salina* SEMICONTINUOUS CULTURE

A. B. Borovkov, I. M. Gudvilovych

Institute of Biology of Southern Seas
of National Academy of Sciences of Ukraine,
Sevastopol

E-mail: spirit2000@ua.fm

The dynamics of biomass density, chlorophyll *a* and chlorophyll *b*, total carotenoids and protein content of *Dunaliella salina* semicontinuous culture were investigated. The type of change of pigments and protein content of *D. salina* was determined under semicontinuous cultivation; the possibility of regulation of these microalgae chemical composition with the help of varying the specific flow rate was shown. Maximum content of pigments of *D. salina* biomass was noticed under specific flow rate 0.14 day⁻¹, and it decreased while increasing specific flow rate from 0.14 to 0.42 day⁻¹. The production characteristics of *D. salina* semicontinuous culture on biomass, chlorophyll *a*, chlorophyll *b*, total carotenoids and protein were defined. It was proved that was *D. salina* productivity under the batch cultivation 1.2–2.1 times less than under the semicontinuous cultivation. Maximum pigments, biomass and protein productivity was realized under specific flow rate 0.32 day⁻¹ and reached 0.45 g·l⁻¹·day⁻¹ of organic substances in biomass, 4.0 mg·l⁻¹·day⁻¹ in carotenoids and 0.25 g·l⁻¹·day⁻¹ in protein. Comparison between the got culture productivity under the laboratory and industrial conditions for the Ukrainian and world companies was carried out. Areas of research works for *D. salina* culture productivity increasing under the working conditions were estimated.

Key words: *Dunaliella salina*, semicontinuous cultivation, pigments, productivity.