

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО ПО РЫБОЛОВСТВУ**



Дальневосточный государственный технический  
рыбохозяйственный университет

**НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКИЕ ВОПРОСЫ  
РЕГУЛИРОВАНИЯ РЫБОЛОВСТВА**

**Материалы Национальной  
научно-технической конференции**

(Владивосток, 20–21 мая 2025 г.)

Электронное издание

Владивосток  
Дальрыбвтуз  
2025

УДК 639.2+338  
ББК 65.35(2P55)  
Н34

**Редакционная коллегия:**

**Председатель** – Матросова И. В., канд. биол. наук, доцент, директор Института рыболовства и аквакультуры (ИРиА) ФГБОУ ВО «Дальрыбвтуз».

**Секретарь** – Сергеева М. М., ст. преп. кафедры «Водные биоресурсы и аквакультура».

Бойцов А.Н., к.т.н., доцент кафедры «Промышленное рыболовство»;  
Беспалова Т.В., к. ф.м.н., доцент, зав. кафедрой «Высшая математика»;  
Буторина Т.Е., д.б.н, профессор кафедры «Экология и природопользование»;  
Калинина Г.Г., к.б.н., доцент кафедры «Водные биоресурсы и аквакультура»;  
Круглик И.А., к.б.н., доцент, и.о. зав. кафедрой «Экология и природопользование»;  
Лисиенко С.В., д.т.н., доцент, зав. кафедрой «Промышленное рыболовство»;  
Матросова И. В., к.б.н., доцент, зав. кафедрой «Водные биоресурсы и аквакультура»;  
Осипов Е.В., к.т.н., доцент кафедры «Промышленное рыболовство»;  
Пилипчук Д.А., ст. преподаватель кафедры «Промышленное рыболовство»;  
Сергеева М.М., ст. преподаватель кафедры «Водные биоресурсы и аквакультура»;  
Смирнова Е.В., к.б.н., доцент кафедры «Водные биоресурсы и аквакультура»;  
Ющик Е.В., к.т.н., доцент, заведующий кафедрой «Прикладная математика и информатика».

**Н34 Научно-практические вопросы регулирования рыболовства** : материалы Нац. науч.-техн. конф. [Электронный ресурс]. – Электрон. дан. (18,5 Mb). – Владивосток : Дальрыбвтуз, 2025. – 150 с. – Систем. требования : PC не ниже класса Pentium I ; 128 Mb RAM; Windows 98/XP/7/8/10 ; Adobe Reader V8.0 и выше. – Загл. с экрана.  
ISBN 978-5-88871-795-0

Представлены результаты научно-исследовательских работ в области рационального использования водных биологических ресурсов, искусственного воспроизводства гидробионтов, а также освещены вопросы состояния и тенденции развития рыбохозяйственного образования.

УДК 639.2+338  
ББК 65.35(2P55)

ISBN 978-5-88871-795-0

© Дальневосточный государственный  
технический рыбохозяйственный  
университет, 2025

**Дарья Михайловна Еланская**

Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный университет, студент кафедры «Водные биоресурсы и аквакультура», Россия, Владивосток, e-mail: [dasha.yelanskaya@bk.ru](mailto:dasha.yelanskaya@bk.ru)

**Анастасия Андреевна Политаева**

Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный университет, аспирант, ассистент кафедры Водные биоресурсы и аквакультура, Россия, Владивосток, e-mail: [politaeva.aa@dgtru.ru](mailto:politaeva.aa@dgtru.ru)

**Разработка универсальной модели для количественной оценки плотности культуры *Chlorella vulgaris* спектрофотометрическим методом**

*Аннотация.* Проведено исследование по определению универсальных коэффициентов для спектрофотометрического анализа биомассы *Chlorella vulgaris*. Установлены калибровочные зависимости между оптической плотностью при 680 нм, 750 нм и их разностью с концентрацией клеток в культуре. Методом линейной регрессии получены коэффициенты пересчета:  $1,25 \times 10^7$  (OD<sub>680</sub>),  $1,35 \times 10^7$  (OD<sub>750</sub>) и  $7,42 \times 10^7$  кл./мл·OD<sup>-1</sup> (OD<sub>корр.</sub>). Статистическая обработка данных подтвердила высокую значимость моделей ( $R^2=0,93-0,97$ ,  $p < 0,001$ ). Результаты работы позволяют стандартизировать измерения биомассы микроводорослей в исследовательской и промышленной практике.

*Ключевые слова:* *Chlorella vulgaris*, спектрофотометрия, оптическая плотность, калибровочные коэффициенты, биомасса микроводорослей

**Darya M. Yelanskaya**

Far Eastern State Technical Fisheries University, Student of the Department of Aquatic Bioresources and Aquaculture, Russia, Vladivostok, e-mail: [dasha.yelanskaya@bk.ru](mailto:dasha.yelanskaya@bk.ru)

**Anastasia A. Politaeva**

Far Eastern State Technical Fisheries University, Postgraduate student, assistant lecturer of the Department of Aquatic Bioresources and Aquaculture, Russia, Vladivostok, e-mail: [politaeva.aa@dgtru.ru](mailto:politaeva.aa@dgtru.ru)

**Development of a universal model for quantitative assessment of *Chlorella vulgaris* culture density using spectrophotometry**

*Abstract.* This study establishes universal conversion coefficients for spectrophotometric analysis of *Chlorella vulgaris* biomass. Calibration relationships were derived between optical density at 680 nm, 750 nm, and their differential versus cell concentration. Linear regression yielded conversion factors of  $1,25 \times 10^7$  (OD<sub>680</sub>),  $1,35 \times 10^7$  (OD<sub>750</sub>), and  $7,42 \times 10^7$  cells/mL·OD<sup>-1</sup> (OD<sub>corr.</sub>). Statistical analysis confirmed high model significance ( $R^2=0,93-0,97$ ,  $p < 0,001$ ). The results enable standardization of microalgal biomass quantification for both research and industrial applications, providing reliable tools for culture monitoring and process optimization.

*Keywords:* *Chlorella vulgaris*, spectrophotometry, optical density, calibration coefficients, microalgal biomass

## Введение

Современная альгология и биотехнология одноклеточных микроводорослей требуют точных и воспроизводимых методов количественной оценки клеточной биомассы. Одним из наиболее распространенных подходов является спектрофотометрический анализ, позволяющий быстро и неинвазивно определять концентрацию клеток в суспензии по оптической плотности (OD) [1]. Однако применение данного метода связано с рядом методологических сложностей – вариабельность результатов в зависимости от длины волны измерений, наличие фоновых помех и особенности культуральных характеристик штаммов выращиваемых микроорганизмов [2].

Особый интерес для исследований представляет *Chlorella vulgaris* (Bejer) – одноклеточная зеленая микроводоросль, широко используемая в аквакультуре с целью биоремедиации водоемов и производства функциональных кормовых добавок для гидробионтов [3]. Для данного объекта все еще отсутствуют унифицированные коэффициенты пересчета оптической плотности в абсолютные значения концентрации клеток, что затрудняет сравнение результатов между лабораториями [4]. Большинство исследователей используют эмпирически подобранные коэффициенты, не всегда сопровождая их должной статистической валидацией.

Цель работы – разработать универсальную модель для количественной оценки плотности культуры *Chlorella vulgaris* спектрофотометрическим методом.

В настоящей работе предложен комплексный подход к стандартизации спектрофотометрических измерений для *Chlorella vulgaris*, основанный на параллельном анализе оптической плотности на двух длинах волн – 680 нм (максимум поглощения хлорофилла *a*) и 750 нм (контроль фонового рассеяния) [5]. Данный подход позволяет минимизировать погрешности, связанные с наличием неспецифических примесей в культуральной среде. Проведена статистическая обработка данных с расчетом универсальных калибровочных коэффициентов, их статистической значимости и диапазона применимости.

## Материал и методика

Исследования проводились в условиях лаборатории культивирования микроводорослей Научно-производственного департамента марикультуры и кафедры «Водные биоресурсы и аквакультура» ФГБОУ ВО «Дальрыбвтуз».

В основу работы положен материал – чистые культуры *Chlorella vulgaris* (Bejer) в количестве 12 шт., выращенные на питательной среде Тамия [6] в накопительном режиме. Температура воздуха в лаборатории поддерживалась на уровне 28–30 °С, освещенность помещения не менее 10 клк. Режим светового дня – 12 ч. Механическое перемешивание культур проводилось в течение всего светового дня с интервалом 2 ч. Количество клеток в культурах определяли методом прямого подсчета проб в камере Нойбауэра (гемоцитометр) под световым микроскопом Ломо Микмед-6 (×40) [7].

Ежедневно культуры проверялись на альгологическую чистоту методом светового микроскопирования.

Для расчета универсальной модели для количественной оценки плотности культуры *Chlorella vulgaris* измеряли оптическую плотность (OD) культур на двухлучевом спектрофотометре Persee T7DS в прямоугольной кварцевой кювете с длиной оптического пути 1 см при длинах волн 680 и 750 нм [8] непосредственно после прямого подсчета клеток (табл. 1).

Протокол исследования включал корректировку нуля с использованием стерильной питательной среды Тамия, трехкратное измерение проб при длинах волн 680 нм и 750 нм и расчет среднего значения для каждой. Также проведен расчет с учетом фоновой коррекции между OD 680 и 750 нм, что позволяет исключить влияние неспецифического светорассеяния и других помех.

При построении калибровочной кривой использовалась линейная регрессия, где в качестве независимой переменной (*x*) выступала концентрация культуры *C. vulgaris*, а в качестве зависимой (*y*) – оптическая плотность [9]. Проверка линейности модели проводи-

лась по результатам расчета коэффициента детерминации  $R^2$ . Статистическая обработка данных проводилась в программе MS Office Excel в соответствии с ГОСТ Р ИСО 5725-1-2002 [11] и ГОСТ Р ИСО 5479-2002 [10].

Таблица 1 – Материал, положенный в основу работы

Дата	№ пробы	Количество клеток, экз./мл	Оптическая плотность, OD	
			680 нм	750 нм
04.04.2025 – 21.04.2025	1	7 130 000	0,567	0,500
	2	2 150 000	0,228	0,210
	3	1 660 000	0,15	0,139
	4	1 190 000	0,104	0,097
	5	960 000	0,079	0,075
	6	1 380 000	0,152	0,141
	7	1 610 000	0,168	0,156
	8	5 760 000	0,421	0,379
	9	153 200	0,277	0,254
	10	34 400	0,122	0,107
	11	22 800	0,101	0,087
	12	31 600	0,06	0,054

### Результаты и их обсуждение

Проведенный статистический анализ данных для определения универсальной модели подсчета клеток *Chlorella vulgaris* по оптической плотности выявил для всех трех моделей (OD 680 нм, OD 750 нм и их разности – OD<sub>корр.</sub>) высоко значимые результаты, что подтверждается значениями F-критерия Фишера, значительно превышающими критические 1512,6, 880,3 и 571,2 соответственно при  $p < 0,001$  для всех случаев. Это свидетельствует о высокой степени надежности построенных линейных регрессионных моделей (табл. 2).

Таблица 2 – Результаты расчета основных статистических параметров для количественной оценки плотности культуры *Chlorella vulgaris* спектрофотометрическим методом

OD	$k$	$R^2$	SE	$\bar{X}$ ДИ, 95%	F-тест ( $p < 0,001$ )	W ( $p > 0,05$ )	t
680 нм	$1,25 \times 10^7$ кл./мл	0,97	$\pm 0,06 \times 10^7$ кл./мл	$1,25 \pm 0,06 \times 10^7$ кл./мл	1512,6	0,91	38,9
750 нм	$1,35 \times 10^7$ кл./мл	0,95	$\pm 0,07 \times 10^7$ кл./мл	$1,35 \pm 0,07 \times 10^7$ кл./мл	880,3	0,89	23,5
680–750 нм	$7,42 \times 10^7$ кл./мл	0,93	$\pm 0,31 \times 10^7$ кл./мл	$7,42 \pm 0,68 \times 10^7$ кл./мл	571,2	0,91	23,9

OD – оптическая плотность, нм;  $k$  – универсальный коэффициент;  $R^2$  – коэффициент детерминации; SE – стандартная ошибка;  $\bar{X}$  ДИ, 95 % – средний доверительный интервал; F-тест – критерий Фишера; W – критерий Шапиро-Уилка; t – критерий Стьюдента.

Наибольшая точность измерений наблюдается для модели OD 680 нм, где коэффициент детерминации  $R^2$  составил 0,97, что означает объяснение 97 % вариабельности данных моделью. Коэффициент  $k$  для этой модели составил  $1,25 \times 10^7$  кл./мл·OD<sup>-1</sup> с узким доверительным интервалом  $1,19-1,31 \times 10^7$ . Для количественной оценки плотности культуры *Chlorella vulgaris* при OD 680 нм может быть использована следующая модель:

$$\text{Кл./мл} = 1,25 \times 10^7 \times OD_{680}, \quad (1)$$

где Кл./мл – количество клеток *C. vulgaris* в мл; 1,25 – коэффициент; OD<sub>680</sub> – оптическая плотность *C. vulgaris*, нм.

Измерения при OD 750 нм показали меньшую точность, при  $R^2=0,95$  и  $k=1,35 \times 10^7$ . Модель для оценки плотности культуры при OD 750 нм представлена формулой

$$\text{Кл./мл} = 1,35 \times 10^7 \times OD_{750} \quad (2)$$

где Кл./мл – количество клеток *C. vulgaris* в мл; 1,35 – коэффициент;  $OD_{750}$  – оптическая плотность *C. vulgaris*, нм.

Наибольший коэффициент  $k=7,42 \times 10^7$  был рассчитан для разностной модели  $OD_{корр}$ . Данная модель может быть использована при измерении оптической плотности культур с малой концентрацией клеток. Оценка плотности культуры при  $OD_{корр}$  представлена формулой

$$\text{Кл./мл} = 7,42 \times 10^7 \times (OD_{680} - OD_{750}) \quad (3)$$

где Кл./мл – количество клеток *C. vulgaris* в мл; 7,42 – коэффициент;  $OD_{680}$  и  $OD_{750}$  – оптическая плотность *C. vulgaris*, нм.

Значимость всех коэффициентов  $k$  подтверждена  $t$ -критерием Стьюдента (значения 38,9, 23,5 и 23,9 соответственно, все при  $p < 0,001$ ). Проверка нормальности распределения остатков по критерию Шапиро-Уилка ( $W = 0,91, 0,89$  и  $0,91$ ) не выявила отклонений от нормального распределения ( $p > 0,05$ ), что подтверждает корректность применения параметрических методов анализа.

Проведенный сравнительный анализ показал, что использование  $OD$  при длине волны 680 нм для расчета универсальной модели является оптимальной для рутинных измерений благодаря максимальной точности, в то время как  $OD_{корр}$  (680–750 нм) следует применять при наличии значительного фонового шума или при низкой концентрации клеточной культуры.

Полученные коэффициенты позволяют с высокой точностью рассчитать значения оптической плотности для определения концентрации клеток *Chlorella vulgaris* для широкого диапазона измерений, что существенно упрощает мониторинг роста культуры как в лабораторных, так и в промышленных условиях.

### Библиографический список

- Schagerl M., Siedler R., Konopáčová E., Ali S. Estimating Biomass and Vitality of Microalgae for Monitoring Cultures: A Roadmap for Reliable Measurements // *Cells*. 2022. № 11. P. 2455. DOI:10.3390/cells11152455.
- Solovchenko A. Seeing good and bad: Optical sensing of microalgal culture condition // *Algal Research*. 2023. № 71. P. 103071. DOI:10.1016/j.algal.2023.103071.
- Sharma R., Mishra A., Pant D., Malaviya P. Recent advances in microalgae-based remediation of industrial and non-industrial wastewaters with simultaneous recovery of value-added products. // *Bioresource Technology*. 2022. № 344. P. 126129. DOI: 10.1016/j.biortech.2021.126129.
- Dökümcüoğlu V. E., Yılmaz M. Assessment of cell counting method based on image processing for a microalga culture // *Mediterranean Fisheries and Aquaculture Research*. 2020. Т. 3, №. 2. С. 75–81.
- Myers J.A., Curtis B.S., Curtis W.R. Improving accuracy of cell and chromophore concentration measurements using optical density // *BMC Biophys*. 2013. Vol. 6, № 4. DOI: 10.1186/2046-1682-6-4.
- Кузнецов Е.Д., Владимирова М.Г. Железо как фактор, лимитирующий рост хлореллы на среде Тамия // *Физиология растений*. 1964. Т. 11, вып. 4. С. 615–619.
- Stoddart M.J. Cell viability assays: Introduction // *Methods Mol Biol*. 2011. Vol. 740. P. 1–6.
- Лакович Д. Основы флуоресцентной спектроскопии. М.: Мир, 1986.
- Sonawane S.S., Chhajed S.S., Attar S.S. et al. An approach to select linear regression model in bioanalytical method validation. // *J Anal Sci Technol*. 2019. Vol. 10, № 1. DOI: 10.1186/s40543-018-0160-2.