

**КУЛЬТУРАЛЬНЫЕ И БИОХИМИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ
PHAEODACTYLUM TRICORNUTUM И *TETRASELMIS SUECIACA*
В НАКОПИТЕЛЬНЫХ КУЛЬТУРАХ**

Ковалев Н.Н., Лескова С.Е., Михеев Е.В., Позднякова Ю.М., Есипенко Р.В.

Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный университет,
г. Владивосток, ул. Луговая, д. 52б.

Проведено сравнительное исследование культуральных и биохимических показателей двух видов микроводорослей, *Tetraselmis sueciaca* и *Phaeodactylum tricorutum*. Плотность клеток в накопительной культуре составляла для *T. sueciaca* 2,88 млн кл/мл, для *Ph. tricorutum* – 20,37 млн кл/мл после 16 дней культивирования. Установлено, что определение оптической плотности культуральной среды является более объективной характеристикой роста накопительной культуры. Прирост культуры *T. sueciaca* за время эксперимента составил 400%, *Ph. tricorutum* – 700%. Выявлено различие химического состава биомассы микроводорослей. По энергетической ценности микроводоросли не различались. Обсуждается перспективность накопительного культивирования микроводорослей в хозяйствах марикультуры.

Ключевые слова: биомасса водорослей, жирные кислоты, микроводоросли, накопительное культивирование, скорость роста, химический состав, хлорофилл.

**CULTURAL AND BIOCHEMICAL PARAMETERS OF TWO MICROALGAE,
PHAEODACTYLUM TRICORNUTUM AND *TETRASELMIS SUECIACA*,
IN CUMULATIVE CULTURES**

Kovalev N.N., Leskova S.E., Mikheev E.V., Pozdnyakova Yu.M., Esipenko R.V.

Far Eastern State Technical Fisheries University, Vladivostok, Lugovaya Str. 52 B.

A comparative study of cultural and biochemical parameters of two microalgal species, *Tetraselmis sueciaca* and *Phaeodactylum tricorutum*, was performed. Cell density in the storage culture was 2.88 million cells per one ml for *T. sueciaca* and 20.37 million cells per one ml for *Ph. tricorutum*. As shown, determination of optical density of the culture medium is a more objective characteristic of the cumulative culture growth. For *T. sueciaca*, cell growth rate during the course of experiment made 400% and for *Ph. tricorutum* – 700%. Difference in the chemical composition of microalgal biomass was revealed. The microalgae did not differ in their energy value. The prospects of cumulative culture of microalgae in mariculture farms are discussed.

Key words: algae biomass, fatty acids, microalgae, cumulative culture, growth rate, chemical composition, chlorophyll.

ВВЕДЕНИЕ

Одноклеточные микроводоросли являются эффективными производителями первичной биомассы, находящейся в основе пищевой цепи. Ежегодно микроводоросли усваивают 30–50% неорганического углерода и производят около 50% кислорода атмосферы [Charman, 2013; Yan et al. 2013]. Для их культивирования доступны различные методы, питательные среды и условия, которые следует учитывать при выращивании. В 2017 г. ежегодное мировое производство микроводорослей достигло около 30 000 тонн сухой биомассы [Charman, 2013]. Однако их производство недостаточно для покрытия текущего годового спроса.

До сих пор большинство коммерчески эксплуатируемых видов микроводорослей находят свой основной рынок сбыта в аквакультуре в качестве корма для культивируемых беспозвоночных, таких как двусторчатые моллюски (устрицы, морские гребешки, мидии), голотурии, иглокожие [Conceição et al, 2010; Guedes and Malcata, 2012; Camacho-Rodríguez et al., 2014; Chauton et al., 2015].

Использование микроводорослей в качестве кормов обусловлено составом липидов и высоким содержанием полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК). Они также являются хорошим источником белков, углеводов, пигментов и антиоксидантов [Matos et al, 2016; Bernaerts et al, 2018]. Знание химического состава микроводорослей, выращенных в контролируемых и стандартизированных условиях, является первым шагом к пониманию и продвижению потенциальных возможностей биомассы в качестве пищевой добавки или ингредиента.

Цель настоящего исследования – изучение ростовых и биохимических характе-

ристик микроводорослей *Phaeodactylum tricorutum* и *Tetraselmis sueciaca* в накопительных культурах, поскольку данные виды являются природным кормом объектов марикультуры.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве материала для культивирования были использованы чистые лабораторные культуры *Ph. tricorutum* и *T. sueciaca* из коллекции НПДМ ФГБОУ ВО «Дальрыбвтуз». В качестве культиваторов использовали одноразовые полиэтиленовые рукава объемом 40 литров. Микроводоросли выращивали в накопительном режиме на питательной среде Гольдберга, содержащей KNO_3 ; Na_2PO_4 ; $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ и $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ [Кабанова, 1961]. Все манипуляции с водорослями проводились в специальном помещении, где поддерживались стабильные условия. Культуры водорослей содержали при температуре 21–23°C, освещенности 8–10 кЛк, фотопериоде 8 : 16 ч (свет : темнота) и с круглосуточной аэрацией.

Культивирование осуществляли в накопительной монокультуре. Прирост биомассы водорослей определяли по увеличению числа клеток, высчитывая их в каждом опыте в трех камерах Горяева под световым микроскопом. Оптическую плотность культуры определяли на длине волны 750 нм для *Ph. tricorutum* и 540 нм для *T. sueciaca* на спектрофотометре UV-1800. Продолжительность экспериментов составляла 16 дней. Общее содержание углеводов оценивали по образованию окрашенного зеленого соединения с максимумом поглощения при 625 нм в результате реакции гидроксиметил фурфурола, который образуется при гидролизе глюкозы в горячей кислой среде, с антроном [Laurens et al, 2012].

Для определения количественного содержания белка отбирали 10 мл суспензии клеток, центрифугировали при 5 000 оборотов в минуту в течение 5 минут. Надосадочную жидкость удаляли, полученный осадок замораживали и хранили при температуре -20°C до использования. К осадку добавляли 10 мл 1М NaOH и выдерживали на водяной бане при 100°C в течение 5 минут [Herbert et al., 1971], предварительно однократно обработав образцы ультразвуком при 50% мощности в течение 30 секунд. Полученный экстракт центрифугировали при 5 000 оборотов в минуту в течение 5 минут. В надосадочной жидкости проводили определение белка методом Лоури [Lowry et al., 1951].

Хлорофилл выделяли методом экстракции ацетоном из предварительно замороженной биомассы водорослей [Carpelito et al., 2019]. Количественное содержание хлорофиллов определяли спектрофотометрически при длинах волн 450, 630, 647, 664 и 750 нм. В качестве контроля использовали 90%-ный ацетон. Расчет содержания хлорофиллов а, b и c проводили по стандартным формулам [Aminot and Ray, 2001].

Расчет содержания каротиноидов проводили по формуле (1):

$$C \text{ (мг/100 г сырой ткани)} = (A_{450} \cdot V \cdot 100) / 250 \cdot m, \quad (1)$$

где A_{450} – оптическая плотность исследуемого раствора при 450 нм;

V – объем экстрагента, мл;

m – масса навески сырой ткани, г;

250 – средний удельный коэффициент поглощения каротиноидов, $\text{мл} \cdot \text{см} \cdot \text{мг}^{-1}$.

Липиды экстрагировали по методу Фолча [Christie, 2003]. Количество липидов в микроводорослях определяли гравиметрически. Жирные кислоты липидов оп-

ределяли на газовом хроматографе «Shimadzu GC-16A» (Япония) с пламенно-ионизационным детектором и капиллярной колонкой «Supelcowax-10», $0,25 \text{ мм} \times 30 \text{ м}$ (температура инжектора 240°C , температура детектора 240°C , температура термоста-та 190°C , скорость потока газа-носителя 22 см/с , газ-носитель – гелий).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Рост микроводорослей в накопительной культуре характеризуется наличием линейного участка (линейной фазы роста). Этот участок может иметь относительно большую протяженность во времени, а плотность культуры иногда увеличивается в десятки раз. Такой рост связан с постоянством скорости продукции биомассы.

Нами была проведена оценка роста в накопительной культуре *T. sueciaca* и *Ph. tricornutum*. Оценка роста биомассы проводилась по показателям количества клеток в 1 мл культуральной среды и величины оптической плотности, измеренной при 540 и 750 нм соответственно. Динамика роста культуры *T. sueciaca* представлена на рисунке 1, а. Как видно из представленных данных, накопление культуры происходило в течение всего времени эксперимента и не имело линейного характера. Нами было отмечено наличие плато (лаг-фаза) на 4–7-й день эксперимента и вторая лаг-фаза – на 13–15-й день. В то же время измерение оптической плотности культуральной среды при 540 нм показало линейный рост клеток *T. sueciaca*.

Динамика роста культуры *Ph. tricornutum* представлена на рисунке 1, б. Рост культуры этого вида отмечался в течение всего эксперимента и также характеризовался наличием двух лаг-фаз. Первая лаг-фаза, определенная по показателю количества клеток в 1 мл культуральной среды,

отмечалась на 5–7-й день эксперимента, вторая лаг-фаза – на 12–13-й день. Следует отметить, что после второй лаг-фазы для *Ph. tricornutum* был отмечен резкий рост культуры. Определение оптической плотности культуральной среды *Ph. tricornutum* показало равномерный линейный рост культуры.

Обработка данных роста культур по величине клеток в 1 мл среды показала, что рост культуры *T. sueciaca* описывается линейным уравнением (2):

$$y = 0,1599 x + 0,3443, \quad (2)$$

а для роста культуры *Ph. tricornutum* – формулой (3):

$$y = 1,0035 x + 1,4051. \quad (3)$$

Разница значений величины переменной x в приведенных уравнениях свидетельствует, что линейный характер роста более выражен для культуры *Ph. tricornutum* по сравнению с *T. sueciaca*. В связи с высокой вариабельностью значений оцен-

ка линейного роста *T. sueciaca* по количественному показателю будет иметь высокое стандартное отклонение (ошибку).

Линейный рост культуры *T. sueciaca* по величине оптической плотности описывается формулой (4):

$$y = 0,0293 x + 0,1897, \quad (4)$$

для *Ph. tricornutum* – формулой (5):

$$y = 0,0383 x + 0,265. \quad (5)$$

Полученные данные свидетельствуют о линейном характере роста культур. По-видимому, измерение их оптической плотности при длине волны 540 и 750 нм является объективной оценкой накопительного роста.

Значения величин оптической плотности отличались при различном количестве посевного материала. Проведенные нами расчеты показали, что количество клеток *T. sueciaca* увеличивалось с 0,61 до 2,88 млн кл/мл, а для *Ph. tricornutum* – с 3,65 до 20,37 млн кл/мл за все время эксперимента.

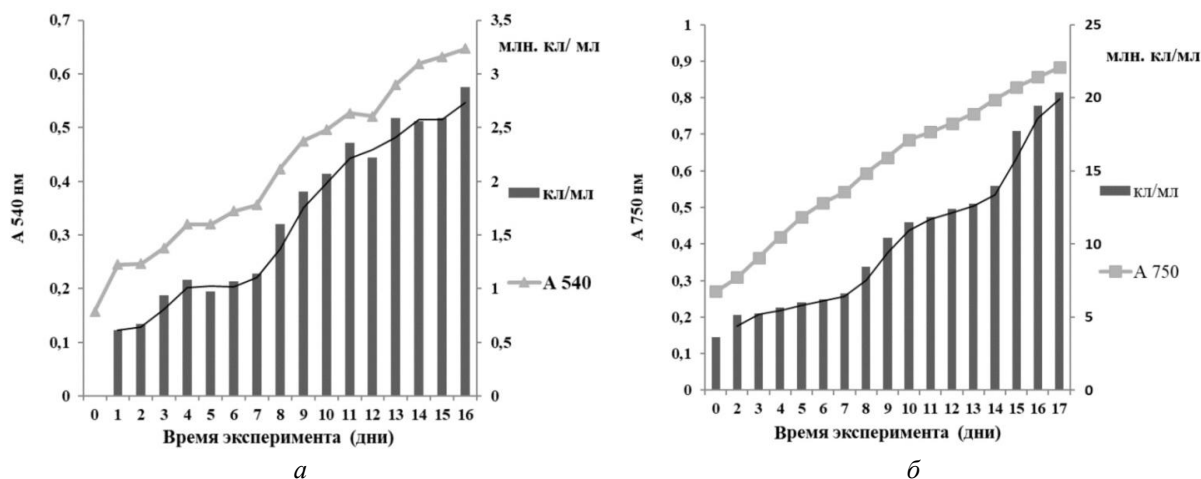


Рис. 1. Рост культур *Tetraselmis sueciaca* (а) и *Phaeodactylum tricornutum* (б). Примечание: А 540 нм, А 750 нм на графиках – значение величин оптической плотности при длинах волн 540 и 750 нм

Fig. 1. *Tetraselmis sueciaca* (a) and *Phaeodactylum tricornutum* (b) cultures growth. Note: On the graphs, A 540 nm and A 750 nm present the value of the optical density at wavelengths of 540 and 750 nm

Расчет прироста культур представлен на рисунке 2, а. Из приведенных данных видно, что культуры микроводорослей значительно различались по темпу прироста количества клеток, измеренного по величине оптической плотности. Величина оптической плотности культур на начало эксперимента принята за 0%. Результаты проведенного эксперимента показывают, что прирост культуры *T. sueciaca* за 16 дней эксперимента составил 400%, а культуры *Ph. Tricornutum* – более 700%.

Оценка ежедневного роста культур позволяет детализировать данные, приведенные на рисунке 2, б. Результаты свидетельствуют о нелинейном росте культур. Со-

поставление данных рисунков 1 и 2 показывает, что минимальному росту клеток или его отсутствию соответствуют лаг-периоды роста культур. В целом удельная скорость роста клеток *Ph. tricornutum* была выше, чем у *T. sueciaca*.

Оценочной характеристикой эффективности культивирования микроводорослей является величина биомассы в единице объема культуральной среды (рис. 3). Как видно из рисунка, накопительное культивирование микроводорослей в течение 16 суток приводило к формированию биомассы *Ph. tricornutum* в количестве 2,7 мг/мл, для *T. sueciaca* – 1,4 мг/мл.

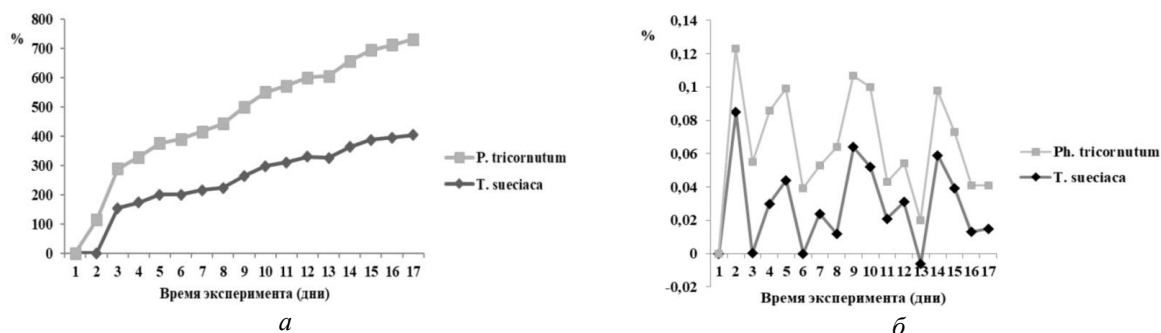


Рис. 2. Прирост количества клеток культур *Tetraselmis sueciaca* и *Phaeodactylum tricornutum* по отношению к началу эксперимента (а) (%) и ежесуточный прирост (б) (% по нарастающей). На рис. а за 100% принято значение количества клеток в начале эксперимента; на рис. б за 100% принято значение количества клеток за каждый день эксперимента

Fig. 2. The growth of *Tetraselmis sueciaca* and *Phaeodactylum tricornutum* cultures relative to the beginning of the experiment (%) and daily increase in cell culture (% increasing) during the experiment. In fig. а, number of cells at the beginning of the experiment is taken as 100%; in fig. б, the number of cells for each day of the experiment is taken as 100%

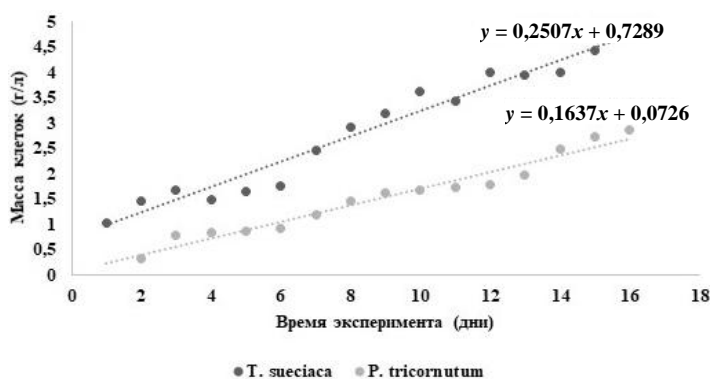


Рис. 3. Прирост биомассы в единице объема культуральной среды

Fig. 3. The increase in biomass per volume unit of the culture medium

Показателем эффективности культивирования является плотность клеток в 1 мл среды (табл. 1). Представленные в таблице данные свидетельствуют, что за равное время культивирования прирост количества клеток *Ph. tricornutum* был в 7,4 раза больше, чем клеток *T. sueciaca*. Также в 6,9 раза отличалась скорость удельного роста культур.

Характеристика культуральной среды свидетельствует, что содержание биомассы *T. sueciaca* составляло 0,09%. Для культуры *Ph. tricornutum* эта величина была в 1,7 раза больше. Однако содержание сухих веществ в биомассе *T. sueciaca* было в 1,9 раза больше, чем у *Ph. tricornutum*.

Различия в количественном содержании сухих веществ могут свидетельствовать об отличиях в химическом составе микроводорослей (табл. 2). Определение общего химического состава показало, что по содержанию углеводов и липидов микроводоросль *Ph. tricornutum* превосходит *T. sueciaca* в 1,2–1,3 раза. В то же время содержание белка в сырой биомассе *T. sueciaca* было в 1,4 раза выше, чем в *Ph. tricornutum*.

Расчет показал, что энергетическая ценность микроводоросли *Ph. tricornutum* на 27,6% выше, чем у *Tetraselmis*. В большей мере энергетическая ценность пищи обеспечивается липидами. Из приведенных в таблице 2 данных видно, что микроводоросли различались по суммарному содержанию липидов в 1,4 раза. Выявлены значительные различия в составе жирных кислот микроводорослей. Так, содержание насыщенных жирных кислот в биомассе *T. sueciaca* было в 1,5 раза больше, чем у *Ph. tricornutum* (табл. 3). Следует отметить, что в биомассе *T. sueciaca* также определено более высокое содержание полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК). В то же время содержание мононенасыщенных жирных кислот (МНЖК) и n-3 жирных кислот в биомассе *Ph. tricornutum* было в 1,9 и 1,8 раза выше, чем у *T. sueciaca*. Проведенным исследованием выявлен факт отсутствия докозагексаеновой кислоты (ДГК) в биомассе *T. sueciaca* и в пять раз большее содержание эйкозапентаеновой кислоты (ЭПК) в биомассе *Ph. tricornutum*.

Таблица 1. Характеристика культур микроводорослей после культивирования

Table 1. Characterization of microalgae cultures after cultivation

Показатели	<i>T. sueciaca</i>	<i>Ph. tricornutum</i>
Количество клеток, млн/мл	2,88	20,37
Удельная скорость роста, тыс. кл/сут	141,9	983,5
Биомасса, г/л	1,12	1,54
Содержание биомассы в культуре, %	0,09	0,15
Содержание сухих веществ в биомассе, %	24,0	12,7

Таблица 2. Химические показатели сырой биомассы микроводорослей

Table 2. Chemical indicators of raw microalgal biomass

Показатели	<i>T. sueciaca</i>	<i>Ph. tricornutum</i>
Углеводы, %	5,5	6,6
Белок, %	10,0	7,1
Липиды, %	2,9	3,6
Зола, %	4,7	3,9
Энергетическая ценность, ккал/100 г	88,1	87,2

Таблица 3. Содержание пигментов и жирных кислот в сырой биомассе микроводорослей

Table 3. The content of pigments and fatty acids in the raw microalgal biomass

Показатели	<i>T. sueciaca</i>	<i>Ph. tricornutum</i>
Хлорофилл, мкг/мл	2,38	0,82
Хлорофилл, мг/г сырой биомассы	2,6	4,3
Каротиноиды, мг/г сырой массы	–	0,36
Липиды, %	2,9	3,6
ЖК, % от суммы ЖК		
НЖК	31,9	20,7
МНЖК	18,3	33,9
ПНЖК	48,8	40,1
n-3	21,0	35,8
ЭПК	4,2	22,8
ДГК	–	0,87

Примечание: НЖК – ненасыщенные жирные кислоты; МНЖК – мононенасыщенные жирные кислоты; ПНЖК – полиненасыщенные жирные кислоты; ЭПК – эйкозапентаеновая кислота; ДГК – докозагексаеновая кислота.

Кроме основной роли в процессе фотосинтеза, хлорофиллы очень ценны в продуктах питания как разрешенный зеленый пищевой краситель [Zepka et al., 2019]. Независимо от основной функции хлорофиллов и применения в качестве пищевой добавки они используются для мониторинга состояния сельскохозяйственных производств и оценки первичной продуктивности океана [Vieira et al., 2018]. Большинство прикладных исследований было выполнено на хлорофилле а, хлорофилле b и катаболитах хлорофиллов. Так, для хлорофилла а показана антимуtagenная, хемопреентивная и антиоксидантная активность [Endo et al., 1985], для хлорофилла b – антимуtagenная и антиоксидантная [Islam et al., 2013]. Проведенное нами исследование показало, что концентрация хлорофилла в 1 мл культуральной среды *T. sueciaca* составляла 2,38 мкг/мл, в то время как для *Ph. tricornutum* эта величина была в 2,9 раза меньше. Расчет количества хлорофилла в сырой биомассе показал обратное соотношение: хлорофилла в биомассе *Ph. tricornutum* в 1,6 раза больше, чем у *T. sueciaca*. Выявленная закономерность может быть объяснена различной плотностью культуры клеток. Полученные нами

данные согласуются с результатами, полученными Carneiro с соавторами [2019], которые определили содержание хлорофилла в *Tetraselmis strains* равным 327 мг·л⁻¹.

Проведенные А.В. Бородиной и Л.В. Ладьиной [2013] исследование показало, что содержание каротиноидов в сухой массе *Ph. tricornutum* зависит от температуры культивирования и фотопериода и варьирует от 2,25 до 8,14 мг·г⁻¹ сухой массы. Основным каротиноидом данного вида водорослей являлся фукоксантин, содержание которого составляет от 33,1 до 83,8% от суммы каротиноидов. Содержание каротиноидов в нашей культуре *Ph. tricornutum* составляло 0,36 мг/г сырой биомассы. Перерасчет значения с учетом содержания сухих веществ в биомассе дает величину 2,83 мг/г сухой массы, что совпадает с данными вышеуказанных авторов.

Попытка обеспечить экономически эффективные процедуры инкубации беспозвоночных приводят к разработке альтернативных рационов кормов. Для двусторчатых моллюсков и голотурий лучшим альтернативным продуктом считают микроводоросли, хотя сравнительных экспериментальных исследований выполнено достаточно мало.

На сегодняшний день существуют два основных способа культивирования клеток микроводорослей: накопительный и непрерывный. Промышленное культивирование должно обеспечивать низкую себестоимость получаемой продукции и высокий питательный состав. Культивирование микроводорослей реализуется предприятиями марикультуры в период нереста и выращивания беспозвоночных на разных стадиях развития. Так, на поздних стадиях развития личинок гигантской устрицы при плотности посадки до 10 тыс. лич/л концентрация корма, состоящего из смеси микроводорослей, составляет 200 тыс. кл/мл, при этом на долю *Ph. tricornutum* приходится 40 тыс. кл/мл [Пиркова и др., 2013].

Полученная нами в результате накопительного культивирования плотность клеток *Ph. tricornutum* (20,37 млн кл/мл) показывает перспективность процесса в условиях марикультурного хозяйства. Химический состав водорослей характеризуется соотношением компонентов белок : углеводы : жир, равным 2,0 : 1,8 : 1. Более высокое содержание белка по сравнению с данными, представленными в статье Vieira с соавторами [2018], по-видимому, связано с условиями культивирования. Полученные Niccolaia с соавторами [2019] данные по культивированию различных штаммов *T. sueciaca* позволили получить культуры с плотностью 6,5–9,0 млн кл/мл. При этом соотношение компонентов в сухой массе составляло белок : углеводы : липиды = 2,0 : 1,8 : 1. Полученные нами данные для культуры *T. sueciaca* с плотностью 2,88 млн кл/мл позволяют охарактеризовать компонентный состав по белку, углеводам и липидам, равным 3,5 : 1,9 : 1. Эти показатели свидетельствуют о более высоком содержании белка в культуре *T. sueciaca* и более высоком содержании липидов и хлорофилла в *Ph. tricornutum*. Вместе

с тем, несмотря на различия химического состава, энергетическая ценность биомассы культур микроводорослей не различалась.

Так, при выращивании личинок дальневосточного трепанга микроводоросль *Ph. tricornutum* вводится в состав корма в период завершения личиночной стадии – ранняя аурикулярия [Мокрецова и др., 2012], для личинок мидий данный вид водоросли необходим на поздних стадиях развития великонхи и педивелигер, что способствует увеличению среднесуточного прироста личинок на стадии великонхи в два раза. При выращивании личинок устрицы на поздних стадиях развития состав диеты дополняется микроводорослью *T. sueciaca*, поскольку размер клеток этой водоросли (8×12 мкм) и биохимический состав соответствуют потребностям личинок [Холодов и др., 2010].

Очевидно, физиологическая роль микроводорослей как объекта питания определяется не только химическим составом, но и составом биологически активных веществ. Так, несмотря на равное содержание липидов в водорослях, состав жирных кислот значительно различался. Доля МНЖК и n-3 жирных кислот в биомассе *Ph. tricornutum* была значительно выше. Также выявлено, что содержание ЭПК в культуре *P. tricornutum* в 5,4 раза больше, чем у *T. sueciaca*, а ДГК в биомассе *T. sueciaca* не выявлена.

Показанное почти двухкратное различие в концентрации хлорофилла в сырой массе характеризует эту культуру как продукт с высокой физиологической активностью, учитывая роль антиоксидантов растительного происхождения в кормовых добавках.

Таким образом, изучение культивирования и химического состава различных видов микроводорослей и их использования в промышленной биотехнологии гид-

робинтов подтверждает научную необходимость и обоснованность исследований в данном направлении. При этом необходимо придерживаться всех аспектов культивирования и применения, которые апробированы в лабораторных и промышленных условиях. Важность исследований по научному обоснованию интенсивного культивирования микроводорослей определяется также ростом спроса на продукцию альгобиотехнологии для различных отраслей промышленности.

ЛИТЕРАТУРА

- Бородина А.В., Ладыгина Л.В. 2013. Влияние условий культивирования *Phaeodactylum tricornutum* Bohl. (*Bacillariophyta*) на накопление каротиноидов. *Альгология*. Т. 23. № 2. С. 138–149.
- Кабанова Ю.Г. 1961. О культивировании в лабораторных условиях морских планктонных диатомовых и перидиниевых водорослей. *Труды Института океанологии Академии наук СССР*. Т. 47. С. 203–216.
- Мокрецова Н.Д., Викторовская Г.И., Сухин И.Ю., Дзизюров В.Д. и др. 2012. Инструкция по технологии получения жизнестойкой молоди трепанга в заводских условиях. Тихоокеанский научно-исследовательский рыбохозяйственный центр. Владивосток. ТИПРО-Центр. 81 с.
- Пиркова А.В., Холодов В.И., Ладыгина Л.В. 2013. Биотехника выращивания гигантской устрицы *Crassostrea gigas* th. (*Bivalvia*) в Черном море. *Рибне господарство України*. № 2. С. 36–42.
- Холодов В.И., Пиркова А.В., Ладыгина Л.В. 2010. Выращивание мидий и устриц в Черном море. Под. ред. В.Н. Еремеева; Национальная академия наук Украины. Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского. Севастополь. 424 с.
- Aminot A., Ray F. 2001. Standard procedure for the determination of chlorophyll a by spectroscopic methods. *ICES techniques in marine environmental sciences* (Issue 30), International Council for the Exploration of the Sea. ISSN 0903–2606.
- Bernaerts T.M.M., Gheysen L., Kyomugasho C., Jamsazzadeh Kermani Z., Vandionant S., Foubert I., Hendrickx M.E., Van Loey A.M. 2018. Comparison of microalgal biomasses as functional food ingredients: focus on the composition of cell wall related polysaccharides. *Algal Research*. V. 32. P. 150–161.
- Camacho-Rodríguez J., González-Céspedes A.M., Cerón-García M.C., Fernández-Sevilla J.M., Ación-Fernández F.G., Molina-Grima E.A. 2014. A quantitative study of eicosapentaenoic acid (EPA) production by *Nannochloropsis gaditana* for aquaculture as a function of dilution rate, temperature and average irradiance. *Applied Microbiology and Biotechnology*. V. 98. P. 2429–2440.
- Carneiro M., Pojo V., Malcata F.X., Otero A. 2019. Lipid accumulation in selected *Tetraselmis* strains. *Journal of Applied Phycology*. V. 31 P. 2845–2853.
- Chapman R.L. 2013. Algae: the world's most important “plants” – an introduction. *Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change*. № 18. P. 5–12.
- Chauton M.S., Reitan K.I., Norsker N.H., Tveterås R., Kleivdal H.T.A. 2015. A techno-economic analysis of industrial production of marine microalgae as a source of EPA and DHA-rich raw material for aquafeed: research challenges and possibilities. *Aquaculture*. V. 436. P. 95–103.
- Christie W.W. 2003. Lipid analysis: Isolation, identification and structural analysis of

- lipids. Bridgwater, England: The Oily Press. 416 p.
- Conceição L.E.C., Yúfera M., Makridis P., Morais S., Dinis M.T. 2010. Live feeds for early stages of fish rearing. *Aquaculture Research*. V. 41. P. 613–640.
- Endo Y., Usuki R., Kandena T. 1985. Antioxidant effects of chlorophyll and pheophytin on the autooxidation of oils in the dark. I. Comparison of the inhibitory effects. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. V. 2. P. 1375–1378.
- Guedes A.C., Malcata F.X. 2012. Nutritional value and uses of microalgae in aquaculture. In: Muchlisin Z.A. (ed) *Aquaculture*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/30576>.
- Herbert D., Phipps P.J., Strange R.E. 1971. Chemical analysis of microbial cells. *Methods in Microbiology*. № 58. P. 209–344.
- Islam M.N., Ishita I.J., Jin S.E., Choi R.J., Lee C.M., Kim Y.S., Jung H.A., Choi J.S. 2013. Anti-inflammatory activity of Edible brown alga *Saccharina japonica* and its constituents pheophorbide a and pheophytin a in LPS Stimulated RAW 264.7 macrophage cells. *Food and Chemical Toxicology*. V. 55. P. 541–548.
- Laurens L.M.L., Dempster T.A., Jones H.D.T., Wolfrum E.J., Wychen S.V., McAllister J.S.P., Rencenberger M., Parchert K.J., Gloe L.M. 2012. Algal biomass constituent analysis: Method uncertainties and investigation of the underlying measuring chemistries. *Analytical Chemistry*. V. 84. № 4. P. 1879–1887.
- Lowry O., Rosenbrougt N., Parr A., Randall R. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*. V. 193. № 1. P. 265–276.
- Matos Â.P., Feller R., Moecke E.H.S., de Oliveira J.V., Junior A.F., Derner R.B., Sant'Anna E.S. 2016. Chemical characterization of six microalgae with potential utility for food application. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. V. 93. P. 963–972.
- Nicolaia A., Zittellib G.C., Rodolfia L., Biondia N., Tredicia M. R. 2019. Microalgae of interest as food source: Biochemical composition and digestibility. *Algal Research*. V. 42. P. 101–110.
- Vieira B.M., San S.M., Agurtob C., Freitas M.A., Matad T.M., Martins A.A., Caetano N. 2018. Biochemical characterization of *Phaeodactylum tricornutum* for microalgae-based biorefinery. *Energy Procedia*. V. 153. P. 466–470.
- Yan C., Fan J., Xu C. 2013. Chapter 5. Analysis of oil droplets in microalgae. In: Yang H., Li P. (eds) *Methods in cell biology*. V. 116. Academic Press, Cambridge. P. 71–82.
- Zepka L.Q., Jacob-Lopes E., Roca M. 2019. Catabolism and bioactive properties of chlorophylls. *Current Opinion in Food Science*. V. 26. P. 94–100.

REFERENCES

- Borodina A.V., Ladygina L.V. 2013. Effect of cultivation conditions of *Phaeodactylum Tricornutum* Bohl. (Bacillariophyta) on the accumulation of carotenoids. *Algologiya (Algology)*. Vol. 23. № 2. P. 138–149.
- Kabanova Yu.G. 1961. Laboratory cultivation of marine planktonic diatoms and peridinium algae. *Trudy Instituta okeanologii akademii nauk SSSR (Proceedings of Institute of Oceanology of Academy of Sciences of USSR)*. Vol. 47. P. 203–216.
- Mokretsova N.D., Viktorovskaya G.I., Sukhin I.Yu., Dzizyurov V.D. et al. 2012. Instructions on the technology for producing viable juvenile sea cucumber in the factory. Pacific Fisheries Research Center. Vladivostok. TINRO Center. 81 p.

- Pirkova A.V., Kholodov V.I., Ladygina L.V. 2013. Biotechnology for growing giant oyster *Crassostrea gigas* th. (Bivalvia) in the Black Sea. *Ribne gospodarstvo Ukraini (Fisheries of Ukraine)*. № 2. P. 36–42.
- Kholodov V.I., Pirkova A.V., Ladygina L.V. 2010. The cultivation of mussels and oysters in the Black Sea. (Ed.: Eremeeva V.N.). National Academy of Sciences of Ukraine. Institute of biology of the South Seas named after A.O. Kovalevsky. Sevastopol. 424 p.
- Aminot A., Ray F. 2001. Standard procedure for the determination of chlorophyll a by spectroscopic methods. *ICES techniques in marine environmental sciences* (Issue 30), International Council for the Exploration of the Sea. ISSN 0903–2606.
- Bernaerts T.M.M., Gheysen L., Kyomugasho C., Jamsazzadeh Kermani Z., Vandionant S., Foubert I., Hendrickx M.E., Van Loey A.M. 2018. Comparison of microalgal biomasses as functional food ingredients: focus on the composition of cell wall related polysaccharides. *Algal Research*. V. 32. P. 150–161.
- Camacho-Rodríguez J., González-Céspedes A.M., Cerón-García M.C., Fernández-Sevilla J.M., Acién-Fernández F.G., Molina-Grima E.A. 2014. A quantitative study of eicosapentaenoic acid (EPA) production by *Nannochloropsis gaditana* for aquaculture as a function of dilution rate, temperature and average irradiance. *Applied Microbiology and Biotechnology*. V. 98. P. 2429–2440.
- Carneiro M., Pojo V., Malcata F.X., Otero A. 2019. Lipid accumulation in selected *Tetraselmis* strains. *Journal of Applied Phycology*. V. 31 P. 2845–2853.
- Chapman R.L. 2013. Algae: the world's most important “plants” – an introduction. *Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change*. № 18. P. 5–12.
- Chauton M.S., Reitan K.I., Norsker N.H., Tveterås R., Kleivdal H.T.A. 2015. A techno-economic analysis of industrial production of marine microalgae as a source of EPA and DHA-rich raw material for aquafeed: research challenges and possibilities. *Aquaculture*. V. 436. P. 95–103.
- Christie W.W. 2003. Lipid analysis: Isolation, identification and structural analysis of lipids. Bridgwater, England: The Oily Press. 416 p.
- Conceição L.E.C., Yúfera M., Makridis P., Morais S., Dinis M.T. 2010. Live feeds for early stages of fish rearing. *Aquaculture Research*. V. 41. P. 613–640.
- Endo Y., Usuki R., Kandena T. 1985. Antioxidant effects of chlorophyll and pheophytin on the autooxidation of oils in the dark. I. Comparison of the inhibitory effects. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. V. 2. P. 1375–1378.
- Guedes A.C., Malcata F.X. 2012. Nutritional value and uses of microalgae in aquaculture. In: Muchlisin Z.A. (ed.) *Aquaculture*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/30576>.
- Herbert D., Phipps P.J., Strange R.E. 1971. Chemical analysis of microbial cells. *Methods in Microbiology*. № 58. P. 209–344.
- Islam M.N., Ishita I.J., Jin S.E., Choi R.J., Lee C.M., Kim Y.S., Jung H.A., Choi J.S. 2013. Anti-inflammatory activity of Edible brown alga *Saccharina japonica* and its constituents pheophorbide a and pheophytin a in LPS Stimulated RAW 264.7 macrophage cells. *Food and Chemical Toxicology*. V. 55. P. 541–548.
- Laurens L.M.L., Dempster T.A., Jones H.D.T., Wolfrum E.J., Wychen S.V., McAllister J.S.P., Rencenberger M., Parchert K.J., Gloe L.M. 2012. Algal biomass constituent analysis: Method uncertainties and investigation of the underlying measuring chemistries. *Analytical Chemistry*. V. 84. № 4. P. 1879–1887.

- Lowry O., Rosenbrought N., Parr A., Randall R. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. *Journal of Biological Chemistry*. V. 193. № 1. P. 265–276.
- Matos Â.P., Feller R., Moecke E.H.S., de Oliveira J.V., Junior A.F., Derner R.B., Sant'Anna E.S. 2016. Chemical characterization of six microalgae with potential utility for food application. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. V. 93. P. 963–972.
- Nicolaia A., Zittellib G. C., Rodolfia L., Biondia N., Tredicia M. R. 2019. Microalgae of interest as food source: Biochemical composition and digestibility. *Algal Research*. V. 42. P. 101–110.
- Vieira B.M., San S.M., Agurtob C., Freitas M.A., Matad T.M., Martins A.A., Caetano N. 2018. Biochemical characterization of *Phaeodactylum tricornutum* for microalgae-based biorefinery. *Energy Procedia*. V. 153. P. 466–470.
- Yan C., Fan J., Xu C. 2013. Chapter 5. Analysis of oil droplets in microalgae. In: Yang H., Li P. (eds) *Methods in cell biology*. V. 116. Academic Press, Cambridge. P. 71–82.
- Zepka L.Q., Jacob-Lopes E., Roca M. 2019. Catabolism and bioactive properties of chlorophylls. *Current Opinion in Food Science*. V. 26. P. 94–100.

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ INFORMATION ABOUT THE AUTHORS

Ковалев Николай Николаевич – Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный университет; 690087, Россия, Владивосток; доктор биологических наук; главный научный сотрудник НИИ инновационных биотехнологий; kovalevnn61@yandex.ru. SPIN-код: 4406-9654, Author ID: 96894, Scopus ID: 7005804649.

Kovalev Nikolay Nikolaevich – Far Eastern State Technical Fisheries University; 690087, Russia, Vladivostok; Doctor of Biological Sciences; Chief Researcher, Research Institute of Innovative Biotechnologies; kovalevnn61@yandex.ru. SPIN-код: 4406-9654, Author ID: 96894, Scopus ID: 7005804649.

Лескова Светлана Евгеньевна – Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный университет; 690087, Россия, Владивосток; кандидат биологических наук, доцент кафедры «Водные биоресурсы и аквакультура»; svetaleskova@mail.ru. SPIN-код: 5124-2384, Author ID: 960459.

Leskova Svetlana Evgenievna – Far Eastern State Technical Fisheries University; 690087, Russia, Vladivostok; Candidate of Biological Sciences, Associate Professor of the Aquatic Bioresources and Aquaculture Chair; svetaleskova@mail.ru. SPIN-код: 5124-2384, Author ID: 960459.

Михеев Евгений Валерьевич – Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный университет; 690087, Россия, Владивосток; кандидат технических наук; ст. научный сотрудник НИИ инновационных биотехнологий; zhenyasuper79@mail.ru. SPIN-код: 1244-4962, Author ID: 964637, Scopus ID: 6602626984.

Mikheev Evgeny Valerievich – Far Eastern State Technical Fisheries University; 690087, Russia, Vladivostok; Candidate of Technical Sciences; Head Researcher of Research Institute of Innovative Biotechnology; zhenyasuper79@mail.ru. SPIN-код: 1244-4962, Author ID: 964637, Scopus ID: 6602626984.

Позднякова Юлия Михайловна – Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный университет; 690087, Россия, Владивосток; кандидат технических наук; директор НИИ инновационных биотехнологий; pozdnyakova.julia@yandex.ru. SPIN-код: 9789-9378, Author ID: 964637, Scopus ID: 6602228783.

Pozdnyakova Yuliya Mikhaylovna – Far Eastern State Technical Fisheries University; 690087, Russia, Vladivostok; Candidate of Technical Sciences; Director of Research Institute of Innovative Biotechnology; pozdnyakova.julia@yandex.ru. SPIN-код: 9789-9378, Author ID: 411202. Scopus ID: 6602228783.

Есипенко Роман Владимирович – Дальневосточный государственный технический рыбохозяйственный университет; 690087, Россия, Владивосток; кандидат технических наук; младший научный сотрудник НИИ инновационных биотехнологий; azt@bk.ru. SPIN-код: 7923-5379, Author ID: 860260, Scopus ID: 57216585877.

Esipenko Roman Vladimirovich – Far Eastern State Technical Fisheries University; 690087, Russia, Vladivostok; Junior Researcher, Research Institute of Innovative Biotechnology, Candidate of Technical Sciences; azt@bk.ru. SPIN-код: 7923-5379, Author ID: 860260, Scopus ID: 57216585877.