

УДК 582.26.27

С. М. Шинкарев, А. Я. Самуйленко, С. А. Гринь, Л. А. Неминущая,  
Т. А. Скотникова, И. В. Павленко, А. В. Канарский

## ПЕРСПЕКТИВА РАЗВИТИЯ ТЕХНОЛОГИИ ПРОИЗВОДСТВА МИКРОВОДОРОСЛЕЙ

*Ключевые слова:* микроводоросли, периодическое и непрерывное культивирование, полиненасыщенные жирные кислоты, биологически активные добавки.

*Показана тенденция развития технологии производства микроводорослей и их переработки в биологически активные вещества. Рекомендуется непрерывное культивирование микроводорослей как устойчивый способ продуцирования клеточной массы или других биологически активных продуктов в оптимальных условиях. Установлена целесообразность применения биомассы микроводорослей в сельском хозяйстве, в пищевой промышленности, парфюмерии, фармакологии, медицине*

*Key words:* microalgae, periodic and continuous cultivation, polyunsaturated fatty acids, biologically active additives.

*The tendency of development of technology of microalgae production and their processing into biologically active substances is shown. It is recommended to continuously cultivate microalgae as a stable way of producing the cell mass or other biologically active products under optimal conditions. The expediency of using microalgae biomass in agriculture, in the food industry, perfumery, pharmacology, medicine has been established*

**Актуальность.** Микроводоросли (МКВ) являются древнейшими микроорганизмами, находятся в начале трофических систем, играют важную роль в функционировании всей биосферы. Это и прокариотические синезеленые водоросли, которые сейчас относят к цианобактериям, и эукариотические, имеющие типичную для растительной клетки структуру. Существует множество видов эукариотических одноклеточных микроорганизмов. Количество соединений, которые могут синтезировать эти водные микроорганизмы, очень велико, и некоторые еще до сих пор не изучены. Такое многообразие метаболитов формирует потенциал для использования МКВ в пищевой, косметической и фармацевтической промышленности [1, 2, 3].

Целью данной статьи является оценка современного состояния биотехнологии МКВ для получения биополимеров, биологически активных веществ на основе анализа литературных источников.

Следует отметить, что идея культивирования МКВ не нова. Для получения пищевого масла в 40-х годах прошлого века предпринимались попытки выращивания диатомовых водорослей, которые на тот момент не увенчались успехом из-за низкой продуктивности культур [4]. Возобновление исследований, связанных с созданием промышленной технологии микроводорослей, как источников белка, витаминов и биологического кислорода, началось в конце 60-х гг., на основе этих исследований возникла востребованная в настоящее время новая отрасль «синяя» биотехнология [5, 6].

Мировое производство биомассы МКВ составляет более 7 тыс. тонн в год. При этом неуклонно растет объем продаж продуктов из микроводорослей в стоимостном выражении: кормовые добавки; биологически активные вещества, такие как астаксантин,  $\beta$ -каротин, лютеин, фикоцианин, фикоэритрин, догозагексаеновая кислота, экстракты антиоксидантов, арахидоновая кислота и смеси полиненасыщенных жирных кислот (ПНЖК), токсины, аминокислоты и жирные кислоты, меченные стабильными атомами [3, 6, 7].

В настоящее время уделяется внимание возможности применения ПНЖК, в частности Омега-3 и Омега-

6 жирных кислот, для поддержания жизнедеятельности человека.

Одной из задач современной «синей» биотехнологии является повышение выхода конечного продукта (ПНЖК) при культивировании МКВ, для чего проводятся исследования физиологии микроводорослей при их культивировании и изучение путей биосинтеза кислот разными видами МКВ [8]. Другая задача - разработка «упрощенной» двухстадийной схемы, которая позволяет не выделять ПНЖК, а использовать их в составе микроводорослей, которые культивируют и включают в пищевую цепь, описанную выше.

Спектр использования ПНЖК весьма широк. Они используются в качестве лекарственных средств и биологически активных добавок (БАД), для лечения онкологических, сердечнососудистых, воспалительных заболеваний и диабета тип 2 [9]. В косметологии ПНЖК используются как смягчающие и увлажняющие вещества и кондиционеры кожи, в фармакологии – как антиоксиданты и антибактериальные препараты. Жирные кислоты, в частности, линолевая и линоленовая, влияют на обменные процессы кожи и восстанавливают барьерные свойства эпидермиса. ПНЖК используются в функциональном питании человека.

Источниками получения ПНЖК могут служить микроводоросли, микроорганизмы, растения, животные и грибы. Практически все ПНЖК можно получить из МКВ стандартными методами выделения и очистки. На сегодняшний день МКВ считаются не только непосредственными продуцентами ряда полезных веществ, но и потенциальными платформами для получения генно-инженерных жирных кислот.

Наиболее продуктивными производителями ПНЖК являются красные и зеленые водоросли. Человек получает Омега-3 и ПНЖК с пищей (жирная рыба, рыбий жир, икра). Рыба, богатая жиром с ПНЖК, не синтезирует их самостоятельно, а получает по пищевой цепи, которая начинается с МКВ. Микроводоросли поедаются мелкой рыбой, являющейся пищей более крупных и хищных особей.

В этой связи наблюдается увеличение научного и практического интереса к микроводорослям, что подтверждается исследованиями их физиологии и биохимического состава, а также к разработке технологии их воспроизводства [2, 3].

*Виды микроводорослей.* Известно более чем 25 тыс. видов микроводорослей, однако в коммерческих целях используется не более 15 – 17 видов, которые накапливают в больших количествах разнообразные биологически активные вещества и входят в состав многих пищевых добавок [10]. Среди перспективных МКВ для получения ПНЖК следует упомянуть известные эукариотические микроводоросли – продуценты, среди которых *Dunaliella tertiolecta*, *Nannochloropsis oculata*, *Isochrysis galbana*, *Euglena gracilis*, *Tetraselmis suecica*, *Diacronema vlkianum*.

Для коммерчески значимого получения полиненасыщенных жирных кислот выделен ряд штаммов микроводорослей: линолевой - *S. platensis*, арахидоновой – *Porphyridium cruentum*, докозагексановой - *C. cohnii*, *Schizochytrium sp.*, эйкозапентаеновой - *N. oculata*, *Phaeodactylum tricornutum*, *Nitzschia sp.*, пигментов - *D. salina*, *H. Pluvialis*, фикобилипротеинов - *S. platensis*, *P. Cruentum*, астаксантина - *Haematococcus pluvialis* Flotow, длинноцепочечных полиненасыщенных жирных кислот – *Cryptothecodinium cohnii* Seligo и др. [11, 12].

Объектами исследования служат альгологически чистые культуры зеленой галофильной микроводоросли *Dunaliella salina* Teod. (штамм IBSS-2), красной микроводоросли *Porphyridium purpureum* (Bory) Ross (синоним *Porphyridium cruentum* Ndg.) (штамм IBSS-70) и цианобактерии *Spirulina platensis* (штамм IBSS-31) из коллекции культур ФГБУН ИМБИ [12].

В таблице 1 представлены характеристики отдельных видов микроводорослей.

**Таблица 1 - Характеристики ряда видов МКВ**

Вид МК	Состав, % от сухого веса			Ростовые характеристики			Источники цитирования
	Белки	Липиды	Углеводы	Макс. Выход биомассы, г/л	Макс. Плотность клеток, 10 <sup>7</sup> кл/мл	Удельная скорость роста, сутки <sup>-1</sup>	
<i>Emiliania luxleyi</i>	25-30	45-60	10-18	8,36	0,96	0,3 – 1,4	13
<i>Isochrysis galbana</i>	50	26	28	18,126 ± 3,229	2,15 ± 0,41 (1,65 по ист. 8)	1,122 ± 0,050 (0,43 по ист.8)	14
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	41	20	21	0,436	1,71 ± 0,03 (23,31 по ист.8)	1,011 ± 0,030	15, 16
<i>Dunaliella salina</i>	55-65	5-10	16-20	2,55	0,392	0,2-0,4	15, 17
<i>Chlorella vulgaris</i>	55	12	25	3,5	5,5	0,5	18, 19

В практике зарубежных фирм юридически разрешено применять в промышленной биотехнологии как натуральные (нативные, природные) штаммы микроорганизмов, так и целенаправленно генетически измененные формы – ГМО. Однако в РФ для промышленных целей использование в качестве продуцентов

генетически измененных штаммов законодательно запрещено. Для России наиболее востребованным является использование чистых природных продуцентов, к которым относятся природные органические микроводоросли [20].

Основная задача, стоящая перед специалистами в области альгологии (микробиологи, биотехнологи, экологи) - поиск высокопродуктивных штаммов и оптимизации условий их культивирования. Это очень важно для обеспечения возможности широкомасштабного промышленного производства биомассы микроводорослей и расширения спектра их использования [1, 3, 6].

*Культивирование микроводорослей.* Необходимость получения биомассы МКВ в больших объемах требует разработки методов их культивирования: выбор высокопродуктивных штаммов, питательных сред, оптимизации условий культивирования. Кроме этого особое внимание уделяется конструкции ферментеров (реакторов). Для этих целей возможно использование опыта, накопленного исследователями в промышленной биотехнологии [21-25].

Особенность получаемой биомассы МКВ заключается в наличии в ней большого количества белков и незаменимых аминокислот, других биологически активных веществ, лабильных к различным условиям.

Получение экологически чистой биомассы микроводорослей – одно из преимуществ лабораторного и промышленного культивирования МК. Кроме того, выделение биологически активных веществ из полученной таким образом биомассы микроводорослей не требует предварительной очистки от примесей, сушки, обработки кислотой и др. по сравнению с экстрактами морских водорослей, что значительно удешевляет такое производство [26 - 28].

Для повышения рентабельности производств на основе водорослей разрабатываются комплексные технологии их культивирования с целью получения из биомассы разноплановых биоактивных веществ [29].

Реализация такого рода разработок требует, чтобы высокая производительность промышленных систем культивирования сопровождалась возможностью управления биосинтезом ценных в биотехнологическом отношении соединений в условиях интенсивной культуры. К сожалению, продуктивность открытых систем выращивания микроводорослей значительно ниже, чем закрытых фотобиореакторов или лабораторных установок (в 2 и более раз). Значительное влияние на снижение продуктивности оказывают нестабильные физико-химические условия среды и, так называемый, «эффект масштабирования». Это обуславливает необходимость промежуточного этапа при переходе от лабораторных систем культивирования к промышленным системам, когда выращивание МКВ осуществляется в полностью контролируемых условиях, но в установках, аналогичных промышленным. Культивирование в таких полупромышленных модулях, оценка их производительности и химического состава получаемой биомассы микроводорослей позволяет внести необходимые коррективы и избежать значительных

ошибок при внедрении технологии выращивания в промышленных масштабах.

Таким образом, представляет интерес выращивание микроводорослей и цианобактерий, являющихся продуцентами биоактивных веществ, в полупромышленных модулях в контролируемых условиях и оценка химического состава получаемой биомассы [17, 30].

Проблема интенсивного культивирования микроводорослей изучается в США, Японии, Франции, Италии, Чехословакии, Болгарии, России, в странах бывшего СНГ, других странах мира [31, 35].

Оптимизация процессов управляемого культивирования клеток микроводорослей позволяет повышать его эффективность и получать высокие продукционные свойства. В настоящее время применяются различные способы культивирования МКВ, но далеко не все из них обеспечивают низкую себестоимость продукции и требуемый питательный состав [33].

На стадии культивирования осуществляется накопление, как самой биомассы, так и продуктов метаболизма (жизнедеятельности) микроорганизмов. Культивирование микроорганизмов осуществляется следующими способами: поверхностным, глубинным, периодическим, отъемно-доливным и непрерывным.

Для роста биомассы и биосинтеза продуктов метаболизма при культивировании необходимо соблюдение следующих условий: жизнеспособность посевного материала; наличие источника энергии; содержание в питательной среде компонентов, необходимых для синтеза биомассы; отсутствие в среде ингибиторов роста; поддержание в культуральной жидкости необходимых физико-химических условий жизнедеятельности культуры микроорганизмов. Факторы, влияющие на продуктивность микроводорослей, представлены на рис.1 [15].

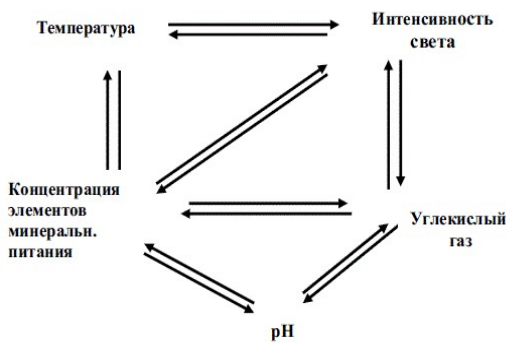


Рис. 1 - Схема взаимосвязи факторов, влияющих на продуктивность микроводорослей

Периодическое глубинное культивирование представляет собой закрытую систему, в которой скорость роста биомассы стремится к нулю из-за истощения субстрата и накопления ингибиторов. Такие системы всегда находятся в неустойчивом состоянии. Кинетическая кривая роста микроводоросли *Isochrysis galbana* показана на рисунке 2 [15].

Рост клеток и образование продуктов биосинтеза при периодическом культивировании представляют собой процессы, которые заканчиваются после некоторого определенного времени, ограниченного элементами питания или другими физико-химическими

условиями. В этом случае возможно вмешательство в процесс роста биомассы на этапе любой фазы [34]. Различные виды МКВ характеризуются индивидуальным максимальным накоплением биомассы, в частности продуктивностью и удельной скоростью роста (таблица 2) [15].

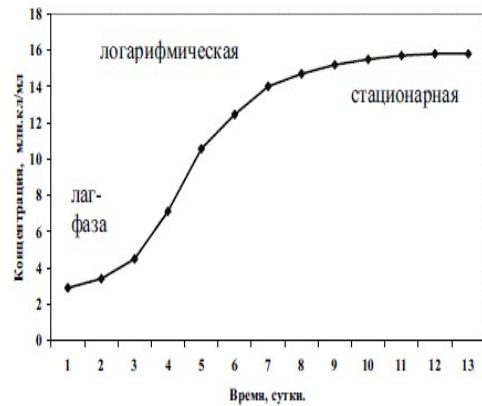


Рис. 2 - Динамика роста микроводоросли *Isochrysis galbana* (периодическое или накопительное культивирование)

Таблица 2 – Максимальное накопление биомассы микроводорослей при периодическом (накопительном) режиме культивирования

Фаза роста	Удельная скорость роста, сут <sup>-1</sup>				Продуктивность, г х л <sup>-1</sup> х сут <sup>-1</sup>			
	1	2	3	4	1	2	3	4
Логарифмическая	0,37	0,43	0,18	0,04	89,7	48,0	3,5	113,3
Замедления	0,17	0,15	0,13	0,02	58,9	29,9	2,7	74,5
Стационарная	0,04	0,01	0,04	0,02	11,0	3,0	1,1	13,9

Примечание: 1- *Dunaliella viridis*,  
2 - *Isochrysis galbana*,  
3 - *Chaetoceros calcitrans*,  
4 - *Tetraselmis suecica*

В непрерывном культивировании (отъемно-доливной способ) рост биомассы может поддерживаться в течение длительного времени и может быть достигнуто установившееся состояние, при котором концентрация клеток, удельная скорость роста и окружающая клетки среда (т.е. концентрация питательных веществ и продуктов) не изменяется со временем. Вследствие этого непрерывная культура предоставляет уникальные возможности для исследования реакций микроорганизмов на изменение окружающей среды и для непрерывного продуцирования клеточной массы или других продуктов в оптимальных условиях.

### Заключение

Определены тенденции развития технологии производства микроводорослей и их переработки в биологически активные вещества. Рекомендуется непрерывное культивирование микроводорослей как устойчивого способа продуцирования клеточной массы или других биологически активных продуктов в оптимальных условиях.

Показана целесообразность применения биомассы микроводорослей в сельском хозяйстве, в пищевой промышленности, парфюмерии, фармакологии, медицине.

### Литература

1. *Микроводоросли: возможности применения* [Эл. ресурс];
2. FAQ: *Физиология микроводорослей* [Эл. ресурс];
3. И. А. Наумов, Е. А. Буркова, З. А. Канарская, А. В. Канарский. *Вестник технологического университета*, 18, 1, 184-188 (2015);
4. Е.И. Макарова, И.П. Отурина, А.И. Сидякин. *Экосистемы, их оптимизация и охран.* Вып. 20, 120-133. (2009);
5. Биотехнологии пришли в Казахстан [Эл. ресурс];
6. И. А. Наумов, Е. А. Буркова, З. А. Канарская, А. В. Канарский. *Вестник технологического университета*, 18, 2, 198-203 (2015);
7. Глобальный рынок Омега-3 до 2013г. [Эл. ресурс];
8. Что такое биотехнология? Основные направления и достижения [Эл. ресурс];
9. S.D. Doughman, S. Krupanidhi, СВ. Sanjeevi, *Current Diabetes Rev.*, 3, 198-203 (2007);
10. М. Мокросноп, Е.К. Золотарева, *BiotechnologiaActa*, 7, 2, 26-33 (2014);
11. P. Spolaore, C. Joannis-Cassan, E. Duran, A. Isambert, *J. Biosci. Bioeng.* 101, 2, 87-96 (2006);
12. R. Raja, S. Hemaiswarya, N.A. Kumar, S. Sridhar, R. Rengasamy, *Crit. Rev. Microbiol.*, 34, 77-88 (2008);
13. Changsawang, Narin. PhD thesis, University of Essex, 236 (2015);
14. A. Gomez-Loredo, I. Benavides, M. Rito-Palomares, *J. of Applied Phycology*, 28, 2, 849-860 (2016);
15. В.И. Холодов, А.В. Пиркова, Л.В. Ладыгина. *Выращивание мидий и устриц в Черном море.* Севастополь, 2010, 424 с.;
16. А.Л. Ависян, Бюл. Гос. Никитского Ботанического Сада, 105, 125-129 (2012);
17. И.Н. Гудвилевич, А.Б. Боровков, Р.П. Тренкеншу, *В сб. Современные технологии продуктов питания, Курск*, 2015. С.44-50;
18. Ф.Б. Джамолов, А.А. Фазулина, А.С. Матвеев, С.В. Фридланд. *Вестник технологического университета*, 20, 8, 143-146 (2017);
19. Патент РФ RU. 21.04.2000;
20. ФЗ «О внесении изменений в отдельные законодательные акты Российской Федерации в части совершенствования государственного регулирования в области генно-инженерной деятельности» (03.07.2016 № 358-ФЗ)
21. В.В. Бирюков. *Основы промышленной биотехнологии.* /Колос. Химия. Москва. 2004. 295 с.
22. В.М. Кантере. *Теоретические основы технологии микробиологических производств.* Агропромиздат. Москва. 1991. 272 с.
23. *Промышленная микробиология.* Под общей редакцией Н.С.Егорова. Высшая школа. Москва. 1989. 688 с.
24. И.Л. Работнова, И.Н. Позмогова. *Хемостатное культивирование и ингибирование роста микроорганизмов.* Наука. Москва. 1979. 207 с.
25. А.Я. Самуйленко, Е.А. Рубан. *Основы биотехнологии производства биологических препаратов. (Теоретические основы, оборудование, технологические линии).* Москва. 2000. – 782 с.
26. Б.Ш. Исмаилходжаев. Авт. дисс. д.б.н. Ташкент, 1994. 46 с.;
27. Л.А. Сиренко, В.Н. Козицкая. *Биологически активные вещества водорослей и качество воды.* Наук. думка, Киев, 1988, 352 с.;
28. Р.П. Тренкеншу. Авт. дисс. к.б.н. Красноярск, 1984. 18 с.;
29. Г.С. Минюк, И.В. Дробецкая, И.Н. Чубчикова, Н.В. Терентьева Н.В. *Морской экологический журнал*, 7, 2, 5-23 (2008);
30. O.R. Zolotariova, E.I. Shniukova, O.O. Sivash, N.F. Mikhailenko, A.V. Kotinskiy, *Prospects of mickoalgae using in biotechnology.* Alterpres. Kyiv, 2008. 234 с.;
31. Р. Саут, А. Уиттик, *Основы альгологии.* Мир, Москва, 1990. 597с.;
32. A. Muller-Feuga, *J. Appl. Phycol.*, 12, 527-534 (2000);
33. Ю.Л. Гуревич, *Устойчивость и регуляция размножения в микробных популяциях.* Новосибирск, 1984. 161 с.;
34. В.А. Лукьянов, А.И. Стифеев, С.Ю. Горбунова, *Вестник Курской гос. сельскох. академии*, 9, с.55-57 (2013).

© С. М. Шинкарев – к.б.н., зав. отделом конструирования биопрепаратов ФГБНУ ВНИТИБП «Всероссийский научно-исследовательский и технологический институт биологической промышленности»; nem\_la53@mail.ru; А. Я. Самуйленко - академик РАН, д.в.н., профессор, директор ФГБНУ ВНИТИБП, nem\_la53@mail.ru; С. А. Гринь - д.б.н., профессор, зам. директора ФГБНУ ВНИТИБП, nem\_la53@mail.ru; Л. А. Неминушая - д.б.н., доцент, вед. научн. сотрудник отдела обеспечения качества лекарственных средств для ветеринарии ФГБНУ ВНИТИБП, nem\_la53@mail.ru; Т. А. Скотникова - д.б.н., доцент, вед. научн. сотрудник отдела обеспечения качества лекарственных средств для ветеринарии ФГБНУ ВНИТИБП, ook\_vnitibp@mail.ru; И. В. Павленко – д.т.н., вед. научн. сотрудник отдела противобактериальных препаратов ФГБНУ ВНИТИБП, ook\_vnitibp@mail.ru; А. В. Канарский - д.т.н., профессор, каф. пищевой биотехнологии, КНИТУ, alb46@mail.ru.

© С.М. Shinkarev - PhD, Head. design department biologics FGBNU VNITIBP "All-Russian Scientific Research and Technological Institute of Biological Industry", nem\_la53@mail.ru; А. I. Samujlenko - Academician of Russian Academy of Sciences, Doctor of Veterinary, professor, director FGBNU VNITIBP, nem\_la53@mail.ru; S. A. Grin - Ph.D., professor, deputy. Director FGBNU VNITIBP, nem\_la53@mail.ru; L. A. Neminuschiy – d.b.Sc., Associate Professor, the Vedas. Scien. at the Department to ensure the quality of medicinal products for veterinary FGBNU VNITIBP, nem\_la53@mail.ru, Т. А. Skotnikova – d.b.Sc., Associate Professor, the Vedas. Scien. at the Department to ensure the quality of medicinal products for veterinary FGBNU VNITIBP, ook\_vnitibp@mail.ru, I. V. Pavlenko - d.t.Sc., the Vedas. Scien at the employee of department противобактериальных drugs of FGBNU VNITIBP, ook\_vnitibp@mail.ru; А. V. Kanarskiy - Dr. Tech. Sci., professor, Department of Food Biotechnology, Kazan National Research Technological University, alb46@mail.ru.