



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА  
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК  
C12N 1/12 (2024.01)

(21)(22) Заявка: 2023134071, 18.12.2023  
(24) Дата начала отсчета срока действия патента:  
18.12.2023  
Дата регистрации:  
24.07.2024  
Приоритет(ы):  
(22) Дата подачи заявки: 18.12.2023  
(45) Опубликовано: 24.07.2024 Бюл. № 21  
Адрес для переписки:  
299011, г. Севастополь, пр. Нахимова, 2,  
Федеральное государственное бюджетное  
учреждение науки Федеральный  
исследовательский центр "Институт биологии  
южных морей имени А.О. Ковалевского РАН",  
отдел охраны интеллектуальной собственности

(72) Автор(ы):  
Боровков Андрей Борисович (RU),  
Гудвилович Ирина Николаевна (RU),  
Челебиева Элина Сергеевна (RU)  
(73) Патентообладатель(и):  
Федеральное государственное бюджетное  
учреждение науки Федеральный  
исследовательский центр "Институт  
биологии южных морей имени А.О.  
Ковалевского РАН" (ФИЦ ИнБЮМ) (RU)  
(56) Список документов, цитированных в отчете  
о поиске: GARGOUCH N. et al. Enhanced B-  
phycoerythrin production by the red microaerophilic  
Porphyridium marinum: A powerful agent in  
industrial applications, Intern. J. Biolog.  
Macromolec., 2018, v. 120, p. 2106-2114.  
ТРЕНКЕНШУ Р.П. и др. Ростовые и  
продукционные показатели водоросли  
Porphyridium cruentum в плотных культурах,  
Интенсивная светокультура растений, (см.  
прод.)

(54) СПОСОБ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ МОРСКОЙ МИКРОВОДОРОСЛИ PORPHYRIDIMUM  
PURPUREUM

(57) Реферат:  
Изобретение относится к области  
биотехнологии. Изобретение представляет собой  
способ культивирования морской  
микроводоросли Porphyridium purpureum,  
относится к биотехнологии микроводорослей, а  
именно к интенсивному выращиванию красной  
морской микроводоросли Porphyridium purpureum,  
и предназначено для получения ее биомассы,  
обогащенной красным пигментом В-  
фикоэритрином. Задачей предлагаемого  
изобретения является модификация водной  
основы питательной среды - замена природной  
морской воды на пресную - для снижения  
энергозатрат и трудоемкости операций при  
получении биомассы микроводоросли. Способ

предусматривает культивирование  
микроводоросли P. purpureum в течение 10 суток  
при температуре 26°C, освещенности 5 клк, при  
непрерывном барботаже культуры атмосферным  
воздухом через аквариумный распылитель со  
скоростью 0,5 л·л<sup>-1</sup> культуры в минуту, на  
модифицированной питательной среде на основе  
пресной воды, имеющей состав: NaNO<sub>3</sub> - 1,2 г·л<sup>-1</sup>,  
NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>×2H<sub>2</sub>O - 0,45 г·л<sup>-1</sup>, EDTA-Na<sub>2</sub> - 0,037 г·л<sup>-1</sup>,  
FeC<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>7</sub>×3H<sub>2</sub>O - 0,0265 г·л<sup>-1</sup>, MnCl<sub>2</sub>×4H<sub>2</sub>O - 0,004  
г·л<sup>-1</sup>, Co(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>×6H<sub>2</sub>O - 0,0031 г·л<sup>-1</sup>,  
(NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub>×4H<sub>2</sub>O - 0,0009 г·л<sup>-1</sup>, K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>

(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>×4H<sub>2</sub>O - 0,0017 г·л<sup>-1</sup>. Содержание морской соли в воде перед приготовлением питательной среды доводят до концентрации 28 г/л, а заявляемое изобретение обеспечивает накопление биомассы и В-ФЭ в культуре *P. purpureum* на

уровне не ниже, чем при ее выращивании на среде на основе морской воды. Изобретение позволяет простым и доступным способом получить биомассу *P. purpureum* требуемого качества с сохранением высокой скорости роста культуры. 3 ил., 1 табл.

(56) (продолжение):

Красноярск, 1977, с. 191-200. RU 2675318 C2, 18.12.2018. FUENTES-GRUNEWALD C. et al. Transform Infrared spectroscopy for monitoring biomass composition and biomass composition and metabolites production, Biores. Technol. 2015. V. 189, p. 357-363.

RU 2823597 C1

RU 2823597 C1

FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY(19) **RU** (11)  
(51) Int. Cl.  
*C12N 1/12* (2006.01)**2 823 597**<sup>(13)</sup> **C1**(12) **ABSTRACT OF INVENTION**(52) CPC  
*C12N 1/12 (2024.01)*(21)(22) Application: **2023134071, 18.12.2023**(24) Effective date for property rights:  
**18.12.2023**Registration date:  
**24.07.2024**

Priority:

(22) Date of filing: **18.12.2023**(45) Date of publication: **24.07.2024** Bull. № 21

Mail address:

299011, g. Sevastopol, pr. Nakhimova, 2,  
Federalnoe gosudarstvennoe byudzhethoe  
uchrezhdenie nauki Federalnyj issledovatel'skij  
tsentr "Institut biologii yuzhnykh morej imeni A.O.  
Kovalevskogo RAN", otdel okhrany intellektualnoj  
sobstvennosti

(72) Inventor(s):

**Borovkov Andrej Borisovich (RU),  
Gudvilovich Irina Nikolaevna (RU),  
Chelebieva Elina Sergeevna (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Federalnoe gosudarstvennoe byudzhethoe  
uchrezhdenie nauki Federalnyj issledovatel'skij  
tsentr "Institut biologii yuzhnykh morej imeni  
A.O. Kovalevskogo RAN" (FITS InBYUM) (RU)**(54) **METHOD FOR CULTIVATION OF SEA MICROALGAE PORPHYRIDIUM PURPUREUM**

(57) Abstract:

FIELD: biotechnology.

SUBSTANCE: invention represents a method for cultivation of marine microalgae *Porphyridium purpureum*, relates to biotechnology of microalgae, namely to intensive cultivation of red marine microalgae *Porphyridium purpureum*, and is intended to produce its biomass enriched with red pigment B-phycoerythrin. Objective of the present invention is to modify the water base of the nutrient medium – replacement of natural sea water with fresh water – to reduce energy consumption and labour intensity of operations when producing microalgae biomass. Method involves cultivation of microalgae *P. purpureum* for 10 days at temperature of 26 °C, illumination 5 klx, with continuous bubbling of culture with atmospheric air through an aquarium sprayer at rate of 0.5 l·l<sup>-1</sup> culture per minute, on a modified nutrient medium based on fresh water, having the following composition: NaNO<sub>3</sub>

– 1.2 g·l<sup>-1</sup>, NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>×2H<sub>2</sub>O – 0.45 g·l<sup>-1</sup>, EDTA-Na<sub>2</sub> – 0.037 g·l<sup>-1</sup>, FeC<sub>6</sub>H<sub>5</sub>O<sub>7</sub>×3H<sub>2</sub>O – 0.0265 g·l<sup>-1</sup>, MnCl<sub>2</sub>×4H<sub>2</sub>O – 0.004 g·l<sup>-1</sup>, Co(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>×6H<sub>2</sub>O – 0.0031 g·l<sup>-1</sup>, (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub>×4H<sub>2</sub>O – 0.0009 g·l<sup>-1</sup>, K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>2</sub>×4H<sub>2</sub>O – 0.0017 g·l<sup>-1</sup>. Content of sea salt in water before preparation of nutrient medium is brought to concentration of 28 g/l, and the claimed invention provides the accumulation of biomass and B-FE in the culture of *P. purpureum* at a level not lower than when grown on a medium based on sea water.

EFFECT: invention enables to obtain *Porphyridium purpureum* biomass of the required quality using a simple and affordable method while maintaining a high rate of growth of the culture.

1 cl, 3 dwg, 1 tbl

Предлагаемое изобретение относится к биотехнологии микроводорослей, а именно к интенсивному выращиванию красной морской микроводоросли *Porphyridium purpureum*, и предназначено для получения ее биомассы, обогащенной красным пигментом В-фикоэритрином.

В литературе описаны различные питательные среды для выращивания *P. purpureum*: F/2, Artificial Seawater Medium, Pm и другие [1-7]. Состав всех этих сред позволяет поддерживать клетки *P. purpureum* в вегетативном состоянии, однако скорость роста культуры и выход биомассы могут значительно отличаться из-за различной стартовой концентрации элементов минерального питания и условий выращивания культуры.

Большинство питательных сред для выращивания морской микроводоросли *P. purpureum* приготавливают на основе природной или искусственной морской воды, что, в первом случае, существенно сужает возможную территорию для выращивания этого вида, а во втором - значительно увеличивает себестоимость получаемой биомассы, так как предполагает дополнительные затраты по приготовлению искусственной морской воды. Замена основы среды для выращивания *P. purpureum* с морской воды на пресную является определяющим для повышения эффективности интенсивного культивирования микроводоросли, что исключает зависимость от источника морской воды и снижает себестоимость получаемой биомассы.

Известен способ культивирования *Porphyridium marinum* при котором выращивание красной микроводоросли проводят в колбах объемом 2 л и объемом питательной среды 1 литр, причем используют среду состава: NaCl - 28 г·л<sup>-1</sup>, NaNO<sub>3</sub> - 1,7 г·л<sup>-1</sup>, K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> - 0,9 г·л<sup>-1</sup>, MgSO<sub>4</sub>×7H<sub>2</sub>O - 7,2 г·л<sup>-1</sup>, CaCl<sub>2</sub>×2H<sub>2</sub>O - 1,55 г·л<sup>-1</sup>, раствор микроэлементов - 1 мл·л<sup>-1</sup> [6]. Культивирование осуществляют в лабораторных условиях в накопительном режиме культивирования при интенсивности света 150 мкмоль фотонов·м<sup>-2</sup>·с<sup>-1</sup>, температуре 20°С и перемешивании при 110 об/мин. При таком режиме культивирования порфиридиума максимальная плотность культуры составляет 4,6×10<sup>6</sup>±0,5 кл·мл<sup>-1</sup>, содержание В-ФЭ в биомассе - 15,9 мг·г<sup>-1</sup> в пересчете на сухой вес (СВ). Максимальное количество В-ФЭ в биомассе (41 мг·г<sup>-1</sup>) получено при оптимизации условий выращивания, а именно: увеличении концентрации NaNO<sub>3</sub> до 3,4 г·л<sup>-1</sup>, уменьшении концентрации K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> до 0 г·л<sup>-1</sup>, снижении интенсивности света до 70 мкмоль фотонов·м<sup>-2</sup>·с<sup>-1</sup> и увеличении объема раствора микроэлементов в 1,5 раза.

Указанная работа имеет принципиальное значение, так как подтверждает возможность получения биомассы *P. marinum* при выращивании его на питательной среде на основе пресной воды. Однако предложенный способ выращивания микроводоросли *P. marinum* для получения биомассы имеет некоторые недостатки.

Наиболее важными из них являются:

а) использование поваренной соли NaCl, что требует дополнительного внесения элементов, содержащихся в морской воде (Mg и Ca), кроме того, в составе среды отсутствует источник углерода, что ограничивает накопление биомассы у микроводорослей, либо требует его дополнительного внесения;

б) существенно более низкая плотность культуры микроводоросли и ее продуктивность с единицы объема, а содержание В-ФЭ в получаемой биомассе при максимальном его количестве более чем на 30% ниже по сравнению с предлагаемым способом;

в) максимизация количества В-ФЭ в биомассе (до  $40 \text{ мг} \cdot \text{г}^{-1}$ ) достигается за счет двукратного увеличения концентрации азота в среде и применения двухэтапного режима культивирования, что в 3 раза увеличивает временной период для выращивания культуры.

Общим для прототипа и заявляемого изобретения является культивирование красной морской микроводоросли на питательной среде, основой которой является пресная вода.

Основные отличия от прототипа заключаются в том, что в заявляемом способе культивирования используется другой вид красной морской микроводоросли - *Porphyridium purpureum*, который выращивают в культиваторах иного (плоскопараллельного) типа на питательной среде по [2], имеющей состав:  $\text{NaNO}_3$  -  $1,2 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ ,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$  -  $0,45 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ ,  $\text{EDTA-Na}_2$  -  $0,037 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ ,  $\text{FeC}_6\text{H}_5\text{O}_7 \times 3\text{H}_2\text{O}$  -  $0,0265 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ ,  $\text{MnCl}_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$  -  $0,004 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ ,  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$  -  $0,0031 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ ,  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \times 4\text{H}_2\text{O}$  -  $0,0009 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ ,  $\text{K}_2\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$  -  $0,0017 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ , при приготовлении которой используют пресную воду и морскую соль до концентрации  $28 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ , а для повышения растворимости углекислого газа атмосферного воздуха - аквариумный распылитель.

Задачей изобретения Способ культивирования морской микроводоросли *Porphyridium purpureum* является модификация водной основы питательной среды - замена природной морской воды на пресную - для снижения энергозатрат и трудоемкости операций при получении биомассы микроводоросли.

Технический результат от использования изобретения заключается в получении биомассы *P. purpureum* с сохранением скорости роста и требуемого качества, а также в простоте и доступности способа культивирования микроводоросли.

Поставленная задача и заявленный технический результат достигаются тем, что в способе культивирования морской микроводоросли *Porphyridium purpureum*, включающем накопительное культивирование микроводоросли, предусмотрены следующие отличия. Для культивирования используют красную микроводоросль *Porphyridium purpureum*. Водоросль выращивают течение 10 суток при температуре  $26^\circ\text{C}$ , освещенности 5 клк, при непрерывном барботаже культуры атмосферным воздухом через аквариумный распылитель. Кроме того, питательная среда по Тренкеншу [2], приготовленная на стерильной морской воде и имеющая состав:  $\text{NaNO}_3$  -  $1,2 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ ,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$  -  $0,45 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ ,  $\text{EDTA-Na}_2$  -  $0,037 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ ,  $\text{FeC}_6\text{H}_5\text{O}_7 \times 3\text{H}_2\text{O}$  -  $0,0265 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ ,  $\text{MnCl}_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$  -  $0,004 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ ,  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$  -  $0,0031 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ ,  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \times 4\text{H}_2\text{O}$  -  $0,0009 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ ,  $\text{K}_2\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$  -  $0,0017 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$  модифицируется, для чего стерильная морская вода заменяется на пресную, в которую добавлена морская соль до концентрации  $28 \text{ г/л}$ .

Заявляемое изобретение поясняется иллюстрациями: Фиг. 1 - Динамика плотности накопительной культуры *P. purpureum*, Фиг. 2 - Содержание В-ФЭ в накопительной культуре *P. purpureum*, Фиг. 3 - Содержание В-ФЭ в клетках микроводоросли *P. purpureum*.

Биомасса красных водорослей является источником широкого спектра биологически активных веществ, таких как: фотосинтетические пигменты (фикоэритрин, фикоцианин, аллофикоцианин), внеклеточные сульфополисахариды и ненасыщенные жирные кислоты [8]. В-фикоэритрин (В-ФЭ), входящий в состав светособирающего комплекса красной микроводоросли *P. purpureum*, с практической точки зрения является ценным природным

пигментом, имеющим редкий розовый цвет, а биотехнологический потенциал которого используется в нутрицевтике, фармацевтике, пищевой и косметической промышленности, а также в биомедицинских исследованиях и клинической диагностике.

Сравнение продукционных характеристик и содержания В-фикоэритрина в культуре *P. purpureum*, выращиваемой на пресной и морской воде, в качестве основы питательной среды, были выполнены авторами в экспериментах в лаборатории ФИЦ ИнБЮМ.

Микроводоросль выращивали в культиваторах плоскопараллельного типа накопительным способом при поверхностной освещенности культиваторов 5 клк, температуре 26°C и барботировании культуры воздухом с помощью аквариумного распылителя со скоростью 0,5 л·мин<sup>-1</sup>·л<sup>-1</sup>. Для засева культиваторов использовали активно делящуюся культуру порфиридиума, когда ее продуктивность максимальна. Суспензию клеток вносили в культиваторы, предварительно рассчитав, чтобы начальная плотность культур составляла не менее 0,1-0,2 г·л<sup>-1</sup> СВ. Питательной средой для предлагаемого способа культивирования являлась питательная среда по [2], приготовленная на кипяченой пресной воде, к которой перед добавлением минеральных солей добавляли морскую соль в количестве 28 г·л<sup>-1</sup>. В качестве сравнения готовили среду для выращивания *P. purpureum* на стерильной морской воде соленостью 18‰, к которой перед внесением минеральных солей добавляли морскую соль в количестве 10 г·л<sup>-1</sup>.

При накопительном режиме выращивания первоначальный запас элементов минерального питания обеспечивает поддержание клеток в культуре в вегетативном состоянии. Плотность культуры микроводоросли, содержание в ней и в биомассе В-ФЭ постепенно увеличиваются и достигают максимального значения (Фиг. 1, 2, 3). Общий выход биомассы *P. purpureum* при накопительном культивировании определяется конечным сбором биомассы по окончании технологического цикла, который проводится в точке максимального содержания В-фикоэритрина в культуре (на 10 сутки). Данные, характеризующие продуктивность накопительной культуры *P. purpureum* по биомассе и В-ФЭ на пресной и морской водной основе питательной среды представлены в табл. 1.

Таблица 1

### Продуктивность накопительной культуры *Porphyridium purpureum*

при её выращивании на питательной среде на основе пресной и морской воды

Водная основа питательной среды	Максимальная продуктивность, г·л <sup>-1</sup> ·сут <sup>-1</sup>	Продуктивность (за 10 суток), г·л <sup>-1</sup> ·сут <sup>-1</sup>	Скорость синтеза В-ФЭ, мг·л <sup>-1</sup> ·сут <sup>-1</sup>	Прирост биомассы (за 13-14 сут), г·л <sup>-1</sup>	Максимальное содержание В-ФЭ, мг/л
Пресная	0,34±0,03	0,24±0,02	11,95±1,75	2,78±0,23	87,5±4,7
Морская	0,34±0,02	0,26±0,01	12,2 ±2,3	3,02±0,02	81±5,4-

В предлагаемом способе культивирования по результатам проведенных экспериментов, продуктивность (по биомассе и В-ФЭ) накопительной культуры *P. purpureum*, выращиваемой на питательной среде на основе пресной воды существенно не отличается от продуктивности культуры на морской воде.

Пример

Для получения инокулята *P. purpureum* 5-7 дней выращивали методом накопительной культуры на среде по [2] имеющей состав:  $\text{NaNO}_3$  -  $1,2 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ ,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$  -  $0,45 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ ,  $\text{EDTA-Na}_2$  -  $0,037 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ ,  $\text{FeC}_6\text{H}_5\text{O}_7 \times 3\text{H}_2\text{O}$  -  $0,0265 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ ,  $\text{MnCl}_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$  -  $0,004 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ ,  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$  -  $0,0031 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ ,  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \times 4\text{H}_2\text{O}$  -  $0,0009 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ ,  $\text{K}_2\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$  -  $0,0017 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ , которую готовили на пресной воде, к которой перед добавлением минеральных солей добавляли морскую соль в количестве  $28 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ . Водоросли выращивали в конических колбах объемом 0,5 л при поверхностной освещенности 5 клк, температуре среды  $26^\circ\text{C}$ , продувке воздухом с помощью аквариумного распылителя со скоростью  $0,5 \text{ л} \cdot \text{мин}^{-1} \cdot \text{л}^{-1}$  культуры.

Полученный инокулят переносили в культиваторы плоскопараллельного типа объемом 3 л, толщиной рабочего слоя 5 см, содержащие свежую питательную среду по [2] состава:  $\text{NaNO}_3$  -  $1,2 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ ,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$  -  $0,45 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ ,  $\text{EDTA-Na}_2$  -  $0,037 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ ,  $\text{FeC}_6\text{H}_5\text{O}_7 \times 3\text{H}_2\text{O}$  -  $0,0265 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ ,  $\text{MnCl}_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$  -  $0,004 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ ,  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$  -  $0,0031 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ ,  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \times 4\text{H}_2\text{O}$  -  $0,0009 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ ,  $\text{K}_2\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$  -  $0,0017 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ , приготовленную на пресной воде, к которой перед внесением минеральных солей добавляли морскую соль в количестве  $28 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ . *P. purpureum* продолжали выращивать в накопительном режиме при поверхностной освещенности культиваторов 5 клк, скорости продувки воздухом  $0,5 \text{ л} \cdot \text{мин}^{-1} \cdot \text{л}^{-1}$  культуры с помощью аквариумного распылителя и температуре питательной среды  $26^\circ\text{C}$ .

Сбор полученной биомассы *P. purpureum* осуществляли через 10 суток. Выход биомассы составил 2 г СВ с 1 л культуры, при содержании В-ФЭ не менее  $80 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$  в культуре и 5% в сухой биомассе (Фиг. 2, 3).

Разработан эффективный способ выращивания красной морской микроводоросли *P. purpureum*, не требующий наличия природной или приготовления искусственной морской воды, а биомасса которой является сырьем для получения БАВ и пигментов. Предложенный способ культивирования морской микроводоросли *Porphyridium purpureum* позволяет получить выход биомассы, а также содержание В-ФЭ в ней, не меньше, чем с использованием морской воды и на 25% выше, чем в прототипе, без дополнительного увеличения количеств реагентов. Так, при предложенных условиях выращивания, выход биомассы составляет не менее 2 г, а В-ФЭ - не менее 80 мг с 1 л за 10 дней.

Полученные результаты демонстрируют возможность существенно снизить себестоимость получаемой биомассы морской микроводоросли *P. purpureum* за счет применения пресной воды вместо природной морской, либо дополнительного использования минеральных солей и трудозатрат для приготовления искусственной морской воды, за счет чего расширить перспективы его массового выращивания.

Источники информации, принятые во внимание:

1. Гудвилович И.П., Лелеков А.С., Мальцев Е.И., Куликовский М.С., Боровков А.Б. Рост культуры *Porphyridium purpureum* (Porphyridiales, Rhodophyta) и продукция В-фикоэритрина при различной освещенности // Физиология растений. 2021. Т. 68, №1. С. 103-112.

2. Тренкеншу Р.П., Терсков И.А., Фуряев Е.А., Ярунцов С.А. Ростовые и продукционные показатели водоросли *Porphyridium cruentum* в плотных культурах //

Интенсивная светокультура растений. Красноярск, 1977. С. 191-200.

3. Durmaz Y., Tamtiirk F., Konar N., Toker Ö.S., Palabiyik I. Effect of pigment composition of *Porphyridium cruentum* as continuously culture method in industrial scale tubular photobioreactor // Intern. J. Life Sciences Biotechnol. and Pharma Research. 2017. V. 6, No. 1. P. 18-21.

5 4. Fabregas J., Garcia D., Morales E., Dominguez A., Otero A. Renewal rate of semicontinuous cultures of the microalga *Porphyridium cruentum* modifies phycoerythrin, exopolysaccharide and fatty acid productivity // J. Ferment. Bioeng. 1998. V. 86, No 5. P. 477-481.

5. Fuentes-Grunewald C., Bayliss C., Zanain M., Pooley C., Scolamacchia M., Silkina A. Evaluation of batch and semi-continuous culture of *Porphyridium purpureum* in a photobioreactor in high latitudes using Fourier Transform Infrared spectroscopy for monitoring biomass composition and metabolites production // Biores. Technol. 2015. V. 189. P. 357-363.

10 6. Gargouch N., Karkouch I., Elleuch J., Elkahoui S., Michaud P., Abdelkafi S., Laroche C., Fendri I. Enhanced B-phycoerythrin production by the red microalga *Porphyridium marinum*: A powerful agent in industrial applications // Intern. J. Biolog. Macromolec. 2018. V. 120. P. 2106-2114.

7. Kathiresan S., Sarada R., Bhattacharya S., Ravishankar A. Culture media optimization for growth and phycoerythrin production from *Porphyridium purpureum* // Biotech, and Bioeng. 2006. V. 96. P. 456-463.

8. Gaignard C., Gargouch N., Dubessay P., Delattre C., Pierre G., Laroche C., Fendri I., Abdelkafi S., Michaud P. New horizons in culture and valorization of red microalgae // Biotechnol. Adv. 2019. V. 37, No. 1. P. 193-222.

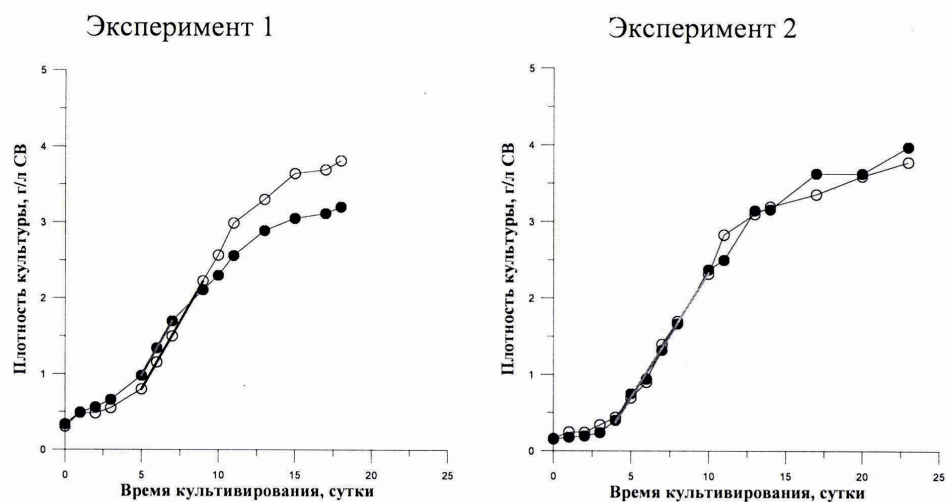
#### (57) Формула изобретения

Способ культивирования морской микроводоросли *Porphyridium purpureum*,  
 25 предусматривающий культивирование методом накопительной культуры на питательной среде, приготовленной на пресной воде, в которую добавляют морскую соль до концентрации  $28 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ , причем в состав питательной среды входят такие компоненты, как  $\text{NaNO}_3$  -  $1,2 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ ,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$  -  $0,45 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ ,  $\text{EDTA-Na}_2$  -  $0,037 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ ,  $\text{FeC}_6\text{H}_5\text{O}_7 \times 3\text{H}_2\text{O}$  -  $0,0265 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ ,  $\text{MnCl}_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$  -  $0,004 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ ,  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$  -  $0,0031 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ ,  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \times 4\text{H}_2\text{O}$  -  $0,0009 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ ,  $\text{K}_2\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$  -  $0,0017 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ , при этом культивирование проводят в течение 10 суток при температуре  $26^\circ\text{C}$  в условиях круглосуточного освещения с поверхностной освещенностью 5 клк и непрерывно осуществляемым барботажем  
 35 воздухом через аквариумный распылитель со скоростью  $0,5 \text{ л} \cdot \text{л}^{-1}$ .

40

45

1



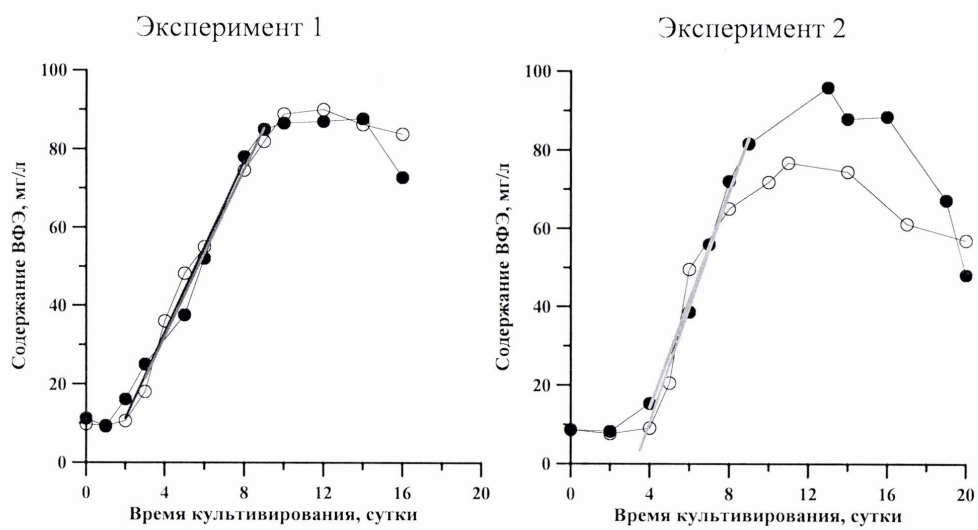
Фиг. 1 Динамика плотности накопительной культуры *P. purpureum* при выращивании на питательной среде: ● – на основе пресной воды; ○ – на основе морской воды

Линия – аппроксимация линейной фазы роста уравнением:

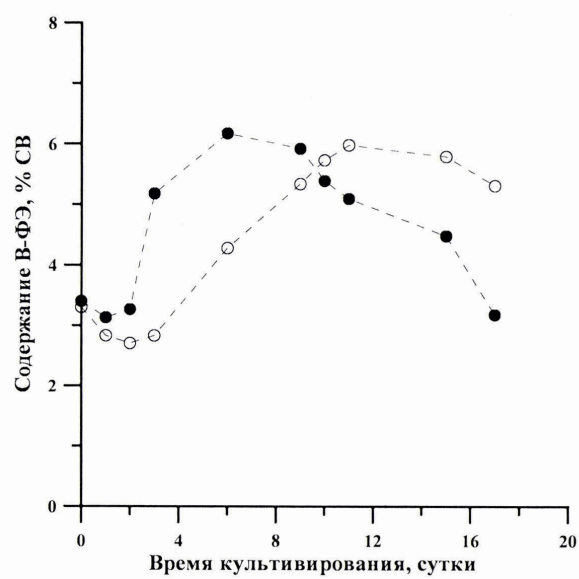
$$B = B_l + P_m \cdot t,$$

значения коэффициентов в тексте.

2



Фиг. 2 Содержание В-ФЭ в накопительной культуре *P. purpureum* при выращивании на питательной среде: ● – на основе пресной воды; ○ – на основе морской воды



Фиг. 3 Содержание В-ФЭ в клетках микроводоросли *P. purpureum* при выращивании на питательной среде: ● – на основе пресной воды; ○ – на основе морской воды