

ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(52) СПК
C12N 1/12 (2024.08)

(21)(22) Заявка: 2024113613, 20.05.2024

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
20.05.2024Дата регистрации:
10.01.2025

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 20.05.2024

(45) Опубликовано: 10.01.2025 Бюл. № 1

Адрес для переписки:

299011, г. Севастополь, пр. Нахимова, 2,
ФГБУН ФИЦ ИнБЮМ РАН, отдел охраны
интеллектуальной собственности

(72) Автор(ы):

Гудвилович Ирина Николаевна (RU),
Боровков Андрей Борисович (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: CASTRO-VARELA P. et al. Effect
of urea on growth and biochemical composition
of *Porphyridium purpureum* (Rhodophyta) and
scaling-up under non-optimal outdoor conditions,
Phycologia. 2021. V. 60, No. 6. P. 572-581. RU
2675318 C2, 18.12.2018. ГУДВИЛОВИЧ И.Н.
и др. Продукционные характеристики
квазинепрерывной культуры *porphyridium*
purpureum (богу) (см. прод.)(54) СПОСОБ ПОЛУПРОМЫШЛЕННОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ КРАСНОЙ МИКРОВОДОРОСЛИ
PORPHYRIDIUM PURPUREUM

(57) Реферат:

Изобретение относится к области биотехнологии и представляет собой способ полупромышления культуре красной микроводоросли *Porphyridium purpureum*, относящуюся к биотехнологии микроводорослей, а именно к интенсивному выращиванию красной морской микроводоросли *Porphyridium purpureum*, и предназначен для получения ее биомассы, обогащенной красным пигментом В-факоэрритрином. Способ предусматривает выращивание микроводоросли *P. purpureum* в открытых культиваторах, расположенных в тепличном модуле, с толщиной рабочего слоя 10 см в течение 13 сут в осенне-зимний период и в течение 8 сут в весенний период при естественном сезонном уровне освещенности и температуре, при непрерывном перемешивании культуры

аквариумной помпой, на питательной среде на основе морской воды с добавлением морской соли до концентрации 28 г·л⁻¹, имеющей состав: NaNO₃ - 1,2 г·л⁻¹, NaH₂PO₄·2H₂O - 0,45 г·л⁻¹, EDTA-Na₂ - 0,037 г·л⁻¹, FeC₆H₅O₇·3H₂O - 0,0265 г·л⁻¹, MnCl₂·4H₂O - 0,004 г·л⁻¹, Co(NO₃)₂·6H₂O - 0,0031 г·л⁻¹, (NH₄)₆Mo₇O₂₄·4H₂O - 0,0009 г·л⁻¹, K₂Cr₂(SO₄)₂·4H₂O - 0,0017 г·л⁻¹. Изобретение позволяет получить биомассу *P. purpureum* требуемого качества с сохранением высокой скорости роста культуры и увеличить среднегодовую производительность систем культивирования микроводорослей в тепличных комплексах. 3 ил., 1 табл.

C1
6 5 4 3 2 9 1 6
RUR U
2 8 3 2 9 1 6
C 1

(56) (продолжение):
ross при частичном возврате среды, Бюллетень Никитского ботанического сада. 2011. Вып. 103, с. 116-120.

R U 2 8 3 2 9 1 6 C 1

R U 2 8 3 2 9 1 6 C 1

RUSSIAN FEDERATION



(19)

RU

(11)

2 832 916⁽¹³⁾ C1

(51) Int. Cl.
C12N 1/12 (2006.01)

FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(52) CPC
C12N 1/12 (2024.08)

(21)(22) Application: 2024113613, 20.05.2024

(24) Effective date for property rights:
20.05.2024

Registration date:
10.01.2025

Priority:

(22) Date of filing: 20.05.2024

(45) Date of publication: 10.01.2025 Bull. № 1

Mail address:
299011, g. Sevastopol, pr. Nakhimova, 2, FGBUN
FITS InBYUM RAN, otdel okhrany intellektualnoj
sobstvennosti

(72) Inventor(s):

Gudvilovich Irina Nikolaevna (RU),
Borovkov Andrej Borisovich (RU)

(73) Proprietor(s):

Federalnoe gosudarstvennoe byudzhetnoe
uchrezhdenie nauki Federalnyj issledovatelskij
tsentr "Institut biologii yuzhnykh morej imeni
A.O. Kovalevskogo RAN" (FITS InBYUM) (RU)

(54) METHOD FOR SEMI-INDUSTRIAL CULTIVATION OF RED MICROALGAE PORPHYRIDIUM PURPUREUM

(57) Abstract:

FIELD: biotechnology.

SUBSTANCE: invention relates to biotechnology and represents a method for semi-industrial cultivation of red microalgae *Porphyridium purpureum*, relates to biotechnology of microalgae, namely to intensive cultivation of red sea microalgae *Porphyridium purpureum*, and is intended for production of its biomass enriched with red pigment B-phycoerythrin. Method comprises growing microalgae *P. purpureum* in open cultivators located in a greenhouse module, with working layer thickness of 10 cm for 13 days in autumn-winter period and for 8 days in spring period at natural seasonal level of illumination and temperature, with continuous stirring of the culture with an aquarium pump, on a nutrient medium based on sea water with the addition of sea salt to concentration of 28 g·l⁻¹,

having the following composition: NaNO₃ – 1.2 g·l⁻¹, NaH₂PO₄·2H₂O – 0.45 g·l⁻¹, EDTA-Na₂ – 0.037 g·l⁻¹, FeC₆H₅O₇·3H₂O – 0.0265 g·l⁻¹, MnCl₂·4H₂O – 0.004 g·l⁻¹, Co(NO₃)₂·6H₂O – 0.0031 g·l⁻¹, (NH₄)₆Mo₇O₂₄·4H₂O – 0.0009 g·l⁻¹, K₂Cr₂(SO₄)₂·4H₂O – 0.0017 g·l⁻¹.

EFFECT: invention enables to obtain *Porphyridium purpureum* biomass of the required quality with preservation of high rate of culture growth and increase average annual productivity of microalgae cultivation systems in greenhouse complexes.

1 cl, 3 dwg, 1 tbl

R U 2 8 3 2 9 1 6 C 1

R U 2 8 3 2 9 1 6 C 1

Предлагаемое изобретение относится к биотехнологии микроводорослей, а именно к интенсивному выращиванию красной морской микроводоросли *Porphyridium purpureum*, и предназначено для получения ее биомассы в открытых культиваторах, расположенных в теплице. Биомасса красной микроводоросли *Porphyridium purpureum* может служить источником ряда ценных физиологически активных веществ - внеклеточных сульфополисахаридов, ненасыщенных жирных кислот, а также красного пигмента В-фикоэритрина (В-ФЭ), относящегося к группе фикобилипротеинов (ФБП) [Gaignard, 2019; Li et al., 2019].

В настоящее время наиболее широкое распространение получили два метода

- 10 культивирования микроводорослей: разведение в открытых бассейнах, требующее минимальных капитальных и эксплуатационных затрат, и выращивание в закрытых фотобиореакторах (ФБР) - полностью замкнутых системах, в которых поддерживаются оптимальные для целевых штаммов параметры культивирования при минимальном использовании природных источников энергии (в частности, солнечного излучения)
- 15 или только в искусственных условиях [Gaignard, 2019; Castro-Varela, 2021; Fuentes-Grunewald et al., 2015]. К недостаткам ФБР следует отнести достаточно высокую себестоимость получаемой биомассы, в то время как наиболее существенными недостатками открытых систем являются более низкая среднегодовая производительность, а также сложность эффективного контроля видового состава и
- 20 условий культивирования. Компромиссным решением перечисленных проблем можно считать метод культивирования в бассейнах, расположенных в теплицах, который позволяет приблизить тепловой режим культуральной среды к оптимальному и повысить среднегодовую производительность за счет увеличения периода культивирования при относительно невысоких затратах, связанных с возведением тепличных конструкций
- 25 и сопутствующей инфраструктуры. При этом возможно решение многих проблем, характерных для полностью открытых систем: поддержание микроводорослей в монокультуре и более высокая урожайность целевых штаммов.

Культивирование микроводорослей в условиях естественного освещения является основным способом получения их биомассы в промышленных масштабах.

- 30 Промышленное выращивание микроводорослей в южных регионах России носит сезонный характер и обычно длится с мая по сентябрь, но при благоприятных погодных условиях, как световых, так и температурных, продолжительность сезона в тепличных комплексах может быть увеличена. Организация выращивания микроводорослей в осенне-зимний период в тепличных комплексах способствует повышению температуры
- 35 среды в бассейнах и позволяет несколько сгладить нестабильность естественных природных условий. Кроме того, некоторые виды микроводорослей, в том числе и *Porphyridium purpureum*, являясь продуцентами широкого спектра БАВ, не требуют для своего роста и синтеза ценных веществ повышенного уровня освещенности и температуры, что позволяет за счет их выращивания в период межсезонья повысить
- 40 эффективность использования тепличных комплексов [Schoeters, 2023].

Известен способ культивирования *P. purpureum*, при котором выращивание микроводоросли происходит в трубчатых фотобиореакторах [Fuentes-Grunewald et al., 2015]. Культивирование осуществляют в теплицах при естественной освещенности и температуре в летне-осенний период (август-сентябрь). В данном способе *P. purpureum* выращивают на питательной среде F/2 в накопительном режиме в трубчатых фотобиореакторах длиной 10 м и диаметром 0,04 м при естественном уровне освещенности и температуре. Скорость подачи углекислоты в культуру осуществляется со скоростью 0,75 л·ч⁻¹. При таком режиме культивирования *P. purpureum* средняя

продуктивность по биомассе составляет $26,6 \text{ мг}\cdot\text{l}^{-1}\cdot\text{сут}^{-1}$, а максимальная продуктивность - $72,5 \text{ мг}\cdot\text{l}^{-1}\cdot\text{сут}^{-1}$.

Недостатками известного способа являются:

5 а) более низкая продуктивность установки ($16 \text{ г}\cdot\text{сут}^{-1}$) по сравнению с предлагаемым способом ($41,4 \text{ г}\cdot\text{сут}^{-1}$) при сопоставимых рабочих объемах культиваторов и сезонах выращивания;

10 б) значительные материальные затраты на изготовление и эксплуатацию описанной установки с трубчатым фотобиореактором (в том числе на очистку трубчатых реакторов после каждого цикла выращивания), а также на дополнительное внесение CO_2 в культуру;

15 в) рабочий объем трубчатого фотобиореактора (600 л) невелик для промышленного культивирования; простое увеличение объема за счет увеличения длины трубчатого культиватора приводит к росту числа технических проблем (удаление избытка O_2 , неравномерное распределение CO_2 , обрастание стенок клетками микроводорослей и солями), т.е. масштабирование возможно увеличением числа таких установок с пропорциональным ростом затрат.

Наиболее близким к заявляемому по технической сущности является способ 20 выращивания *R. rigigaeum* в открытых бассейнах в Чили в регионе с средиземноморским климатом в летний период [Castro-Varela, 2021]. Культиватор представлял из себя открытый бассейн (объемом 700 литров, глубиной 15 см) овальной формы (тип «рэйсвэй»), изготовленный из стеклопластика толщиной 5 мм и общей площадью $4,7 \text{ м}^2$. Перемешивание культуры осуществлялось с помощью лопастей гребного колеса, 25 приводимого в движение электродвигателем, при этом скорость потока культуры составляла $0,3 \text{ м}\cdot\text{s}^{-1}$. Микроводоросли выращивали на среде с концентрацией азота $400 \text{ мг}\cdot\text{l}^{-1}$ без дополнительного внесения углекислого газа при естественном уровне освещенности и температуры в периодическом режиме на протяжении 14 дней. К 30 окончанию культивирования сухая масса микроводоросли составила $0,30 \text{ г}\cdot\text{l}^{-1}$, а содержание В-фикаэритрина (В-ФЭ) в биомассе - $10,2 \text{ мг}\cdot\text{г}^{-1}$. Средняя продуктивность культуры составила $0,0214 \text{ г}\cdot\text{l}^{-1}\cdot\text{сут}^{-1}$ или $3,19 \text{ г}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{сут}^{-1}$.

Указанная работа имеет принципиальное значение, так как подтверждает 35 возможность получения биомассы *R. rigigaeum* при выращивании в открытых бассейнах при естественном уровне освещенности и температуре без дополнительного введения CO_2 в культуру. Однако предложенный способ выращивания микроводоросли *R. rigigaeum* для получения биомассы имеет некоторые недостатки и ограничения.

Наиболее важными из них являются:

40 а) более низкие производственные показатели культуры *R. rigigaeum*: конечная плотность, а также продуктивность биомассы с единицы полезной площади в сопоставимый период выращивания более, чем в 2 раза ниже по сравнению с заявляемым изобретением ($3,19$ и $6,9 \text{ г}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{сут}^{-1}$ соответственно);

45 б) существенно более низкое содержание В-ФЭ в получаемой биомассе, которое более чем в 2 раза ниже, чем в предлагаемом способе;

в) более чем в 2 раза завышенная концентрация азота по сравнению с заявляемым способом, что экономически неоправданно при достигаемой максимальной плотности

культуры в прототипе $0,30 \text{ г}\cdot\text{л}^{-1}$.

В основу изобретения Способ полупромышленного культивирования красной микроводоросли *Porphyridium purpureum* поставлена задача получения биомассы *P. purpureum* в тепличных комплексах в период межсезонья (весенний и осенне-зимний) путем максимального упрощения технологического процесса выращивания.

Техническим результатом данного изобретения является получение качественной биомассы красной микроводоросли *P. purpureum*, обогащенной красным пигментом В-ФЭ, в период межсезонья при минимальных энергетических затратах, а также простоте и доступности способа. Использование предлагаемого изобретения позволяет продлить период сбора биомассы микроводоросли по сравнению с существующими технологиями ее открытого культивирования и увеличить среднегодовую производительность системы культивирования микроводорослей.

Поставленная задача и заявленный технический результат достигаются тем, что в Способе полупромышленного культивирования красной микроводоросли *Porphyridium purpureum*, включающем культивирование микроводоросли в открытых бассейнах, расположенных в тепличном модуле, для достижения коммерчески значимой продуктивности и получения ее биомассы, обогащенной биологически активными веществами, предусмотрены следующие отличия. Культивирование проводят в весенний и осенне-зимний период в бассейнах размером $100\times100 \text{ см}$, расположенных в альгобиотехнологическом (тепличном) комплексе на питательной среде по Тренкеншу [Тренкенш, 1977], приготовленной на черноморской воде, к которой добавлена морская соль до концентрации $28 \text{ г}\cdot\text{l}^{-1}$, и имеющей состав: $\text{NaNO}_3 - 1,2 \text{ г}\cdot\text{l}^{-1}$, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O} - 0,45 \text{ г}\cdot\text{l}^{-1}$, $\text{EDTA-Na}_2 - 0,037 \text{ г}\cdot\text{l}^{-1}$, $\text{FeC}_6\text{H}_5\text{O}_7 \times 3\text{H}_2\text{O} - 0,0265 \text{ г}\cdot\text{l}^{-1}$, $\text{MnCl}_2 \times 4\text{H}_2\text{O} - 0,004 \text{ г}\cdot\text{l}^{-1}$, $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \times 6\text{H}_2\text{O} - 0,0031 \text{ г}\cdot\text{l}^{-1}$, $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \times 4\text{H}_2\text{O} - 0,0009 \text{ г}\cdot\text{l}^{-1}$, $\text{K}_2\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_2 \times 4\text{H}_2\text{O} - 0,0017 \text{ г}\cdot\text{l}^{-1}$. Водоросль выращивают до стадии завершения активного роста: в осенне-зимний период в течение 13, а в весенний - 8 суток, при естественном уровне освещенности и температуры, при непрерывном перемешивании культуры с помощью водяной помпы.

Общим для прототипа и заявляемого изобретения является культивирование красной морской микроводоросли в бассейнах открытого типа.

Основные отличия от прототипа заключаются в том, что в заявляемом Способе полупромышленного культивирования красной микроводоросли *Porphyridium purpureum* микроводоросли выращивают в весенний и осенне-зимний периоды на питательной среде иного состава: $\text{NaNO}_3 - 1,2 \text{ г}\cdot\text{l}^{-1}$, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O} - 0,45 \text{ г}\cdot\text{l}^{-1}$, $\text{EDTA-Na}_2 - 0,037 \text{ г}\cdot\text{l}^{-1}$, $\text{FeC}_6\text{H}_5\text{O}_7 \times 3\text{H}_2\text{O} - 0,0265 \text{ г}\cdot\text{l}^{-1}$, $\text{MnCl}_2 \times 4\text{H}_2\text{O} - 0,004 \text{ г}\cdot\text{l}^{-1}$, $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \times 6\text{H}_2\text{O} - 0,0031 \text{ г}\cdot\text{l}^{-1}$, $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \times 4\text{H}_2\text{O} - 0,0009 \text{ г}\cdot\text{l}^{-1}$, $\text{K}_2\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_2 \times 4\text{H}_2\text{O} - 0,0017 \text{ г}\cdot\text{l}^{-1}$, при приготовлении которой добавляют морскую соль до конечной концентрации в среде $28 \text{ г}\cdot\text{l}^{-1}$, а открытые культиваторы размещают в тепличном модуле. Продуктивность микроводоросли при выращивании в тепличном модуле, находящемся на базе ФИЦ ИнБЮМ, г. Севастополь, Россия, достигает до $7 \text{ г}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{сут}^{-1}$ в весенний, 3,2 в позднеосенний и $2 \text{ г}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{сут}^{-1}$ в зимний период при содержании В-ФЭ в получаемой биомассе не ниже $22 \text{ мг}\cdot\text{г}^{-1}$ (табл. 1).

Необходимость аprobации процесса выращивания культур микроводорослей в pilotных установках определяется существенными различиями лабораторных и

промышленных условий (по освещенности, температуре, типу культивационных установок и др.): в этом случае выращивание микроводорослей осуществляется в установках, аналогичных промышленным, но меньшего объема, что позволяет оценить их производительность в реальных условиях производства.

Способ полупромышленного культивирования красной микроводоросли *Porphyridium rigrigaeum* основан на выращивании ее в накопительном режиме в бассейнах, расположенных в тепличном модуле, а подбор сезонных условий для данного вида, способствующих повышению выхода биомассы, обогащенной красным пигментом, были выполнены авторами в экспериментах на базе альгобиотехнологического комплекса ФИЦ ИнБЮМ.

Заявляемое изобретение поясняется иллюстрациями: Фиг. 1 - Общий вид бассейнов при выращивании *P. rigrigaeum* в альгобиотехнологическом модуле, Фиг. 2 - Плотность культуры при выращивании *P. rigrigaeum* в альгобиотехнологическом модуле. А - осенне-зимний период, Б - весенний период. Фиг. 3 - Содержание В-ФЭ в культуре *P. rigrigaeum* при ее выращивании в альгобиотехнологическом модуле.

В тепличном модуле, находящемся на базе ФИЦ ИнБЮМ, микроводоросль *P. rigrigaeum* выращивали в разные сезоны. В поздневесенний период отмечено негативное влияние на культуру *P. rigrigaeum* избыточной солнечной облученности, особенно в момент старта культивирования, когда концентрация клеток минимальна, что необходимо учитывать при его промышленном выращивании.

Для реализации предлагаемого изобретения и получения биомассы красной микроводоросли, культуру *P. rigrigaeum* выращивают в культиваторах, находящихся в теплице и имеющих размеры: 100×100×15 см в весенне-осенне-зимний период (Фиг. 1). Глубина рабочего слоя суспензии составляет 10 см, объем - 100 л, перемешивание осуществляется посредством водяной помпы.

Продолжительность культивирования определяется естественными световыми и температурными условиями (до фазы замедления роста культуры), которую выявляют по результатам измерения показателей плотности культуры (например, оптической плотности культуры или содержания сухого вещества (СВ)). Действующими факторами для активного роста *P. rigrigaeum* и накопления в его клетках пигмента В-ФЭ является обеспеченность минеральным и энергетическим субстратом; свет является необходимым условием для роста культуры, однако повышенная освещенность негативно влияет на накопление красного пигмента в клетках микроводоросли [Gaignard, 2019].

При выращивании культуры *P. rigrigaeum* в тепличном модуле, находящемся на базе ФИЦ ИнБЮМ, получены накопительные кривые роста *P. rigrigaeum* при толщине рабочего слоя культуры 10 см (Фиг. 2), а также графики по динамике концентрации В-ФЭ в культуре (Фиг. 3). Для определения максимальной продуктивности P_m провели аппроксимацию линейного участка роста уравнением:

$$B=B_0+P_m \cdot t,$$

где B_0 - начальная плотность культуры.

Данные, характеризующие продуктивность накопительной культуры *P. rigrigaeum* по биомассе и В-ФЭ, представлены в таблице 1.

Таблица 1. Продукционные характеристики культуры *P. purpureum* при её выращивании в весенний и осенне-зимний период

Период	Продуктивность на линейной стадии		Продукция , г·м ⁻²	Содержание В-ФЭ, мг·г ⁻¹
	биомасса, г·м ⁻² ·сут ⁻¹	В-ФЭ, мг·м ⁻² ·сут ⁻¹		
Май (8 сут)	6,9	161,7	49,6	23,1
Ноябрь (13 сут)	3,2	52,7	41,6	22,8
Декабрь (13 сут)	2,1	31,7	22,4	23,2

Изобретение поясняется следующими примерами.

Пример 1

Для получения инокулята *P. purpureum* 5-7 дней культивировали методом накопительной культуры в лабораторных условиях. Водоросли выращивали в культиваторах плоскопараллельного типа объемом 3 л, толщиной рабочего слоя 5 см при поверхностной освещенности 5 кЛк, температуре среды 26°C, продувке воздухом с помощью аквариумного распылителя со скоростью 0,5 л·мин⁻¹·л⁻¹ культуры.

Питательную среду по [Тренкеншу, 1977] имеющую состав: NaNO₃ - 1,2 г·л⁻¹, NaH₂PO₄×2H₂O - 0,45 г·л⁻¹, EDTA-Na₂ - 0,037 г·л⁻¹, FeC₆H₅O₇×3H₂O - 0,0265 г·л⁻¹,

MnCl₂×4H₂O - 0,004 г·л⁻¹, Co(NO₃)₂×6H₂O - 0,0031 г·л⁻¹, (NH₄)₆Mo₇O₂₄×4H₂O - 0,0009 г·л⁻¹, K₂Cr₂(SO₄)₂×4H₂O - 0,0017 г·л⁻¹, готовили на стерильной морской воде (стерилизация проводилась УФ стерилизатором Prime 55 Вт в течение 4 часов), к которой перед внесением минеральных солей добавляли морскую соль до конечной концентрации 28 г·л⁻¹. Полученную культуру, состоящую из молодых, активно делящихся клеток *P. purpureum* использовали в качестве инокулята для засева культиваторов открытого типа в тепличном модуле.

Культуру *P. purpureum* выращивали в осенне-зимний период в

альгобиотехнологическом модуле, представляющем собой теплицу из поликарбоната, для защиты от возможных атмосферных осадков и колебаний температуры. Культиваторами служили квадратные бассейны (1×1 м), застеленные полиэтиленовой пленкой, толщиной не менее 150 мкм, уложенные на выровненную поверхность грунта (Фиг. 1). К полученному предварительно инокуляту добавляли питательную среду,

таким образом, чтобы начальная плотность культуры была не менее 0,1 г·л⁻¹. Высота слоя раствора составляла 10 см (ежедневно доливали дистиллированную воду до первоначального уровня), объем культуры - 100 л. *P. purpureum* выращивали при естественном сезонном уровне освещенности и температуры, и непрерывном

перемешивании с помощью аквариумной помпы «Аипап АТ-201» (Chuangxing Electrical Appliances Co., Ltd, Китай). Средняя освещенность рабочей поверхности бассейнов в дневной период в осенне-зимний период составляла 20-30 кЛк; температура культуры на протяжении суток варьировала в диапазоне 14-22°C. При накопительном режиме выращивания систематического внесения биогенных элементов в культуру не

происходило, а плотность культуры *P. rigrigeum* увеличивалась и достигала максимального значения (Фиг. 2А). Накопительное выращивание микроводоросли проводили в бассейнах до стадии замедления роста культуры: в течение 13 суток в осенне-зимний период; время сбора урожая выявляли по результатам измерения показателей плотности культуры (например, оптической плотности культуры или содержания сухого вещества (СВ)). Общий выход биомассы *P. rigrigeum* при накопительном культивировании определялся конечным сбором биомассы, собираемой из культиваторов по окончании технологического цикла. Использование предлагаемого способа обеспечивает получение качественной биомассы красной микроводоросли *P. rigrigeum* с содержанием пигмента В-ФЭ к окончанию выращивания не менее $22 \text{ мг}\cdot\text{г}^{-1}$ при минимальных энергетических затратах; коммерчески значимую продуктивность микроводоросли для южных регионов РФ - свыше $3 \text{ г}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{сут}^{-1}$ в позднеосенний период (Табл. 1).

Пример 2

Выращивание *P. rigrigeum* в весенний период проводили следующим образом. Инокулят для засева открытых культиваторов получали согласно примеру 1. К полученному инокулюту добавляли питательную среду, таким образом, чтобы начальная плотность культуры составляла не менее $0,2 \text{ г}\cdot\text{l}^{-1}$. Высота слоя культуры составляла 10 см (ежедневно доливали дистиллированную воду до первоначального уровня), объем культуры - 100 л. *P. rigrigeum* выращивали при естественном сезонном уровне освещенности и температуры, и непрерывном перемешивании с помощью аквариумной помпы «Atman AT-201» (Chuangxing Electrical Appliances Co., Ltd, Китай). Средняя освещенность рабочей поверхности бассейнов днем в весенний период составляла 60-80 кЛк; температура культуры на протяжении суток изменялась в диапазоне 22-32°C. При накопительном режиме выращивания систематического внесения биогенных элементов в культуру не происходило, а плотность культуры *P. rigrigeum* увеличивалась и достигала максимального значения (Фиг. 2Б). Накопительное выращивание микроводоросли проводили в бассейнах до стадии замедления роста культуры: в весенний период в течение 8 суток (в зависимости от погодных условий); время сбора урожая выявляли по результатам измерения показателей плотности культуры (например, оптической плотности культуры или содержания сухого вещества (СВ)). Общий выход биомассы *P. rigrigeum* при накопительном культивировании определялся конечным сбором биомассы, собираемой из культиваторов по окончании технологического цикла.

Использование предлагаемого способа обеспечивает получение качественной биомассы красной микроводоросли *P. rigrigeum* с содержанием пигмента В-ФЭ к окончанию выращивания не менее $22 \text{ мг}\cdot\text{г}^{-1}$ при минимальных энергетических затратах; коммерчески значимую продуктивность микроводоросли для южных регионов РФ: до $7 \text{ г}\cdot\text{м}^{-2}\cdot\text{сут}^{-1}$ в весенний период (табл. 1).

Разработан эффективный способ полупромышленного культивирования красной микроводоросли *Porphyridium rigrigeum*, биомасса которой является сырьем для получения БАВ и пигментов. Предлагаемый способ полупромышленного культивирования красной микроводоросли *Porphyridium rigrigeum* обеспечивает выход биомассы, а также содержание В-ФЭ в ней в 2 раза выше, чем в прототипе, при двухкратном снижении количества реагентов по азоту. Полученные результаты демонстрируют возможность повысить эффективность использования тепличных комплексов в период межсезонья, за счет чего расширить перспективы массового выращивания микроводорослей.

Источники информации

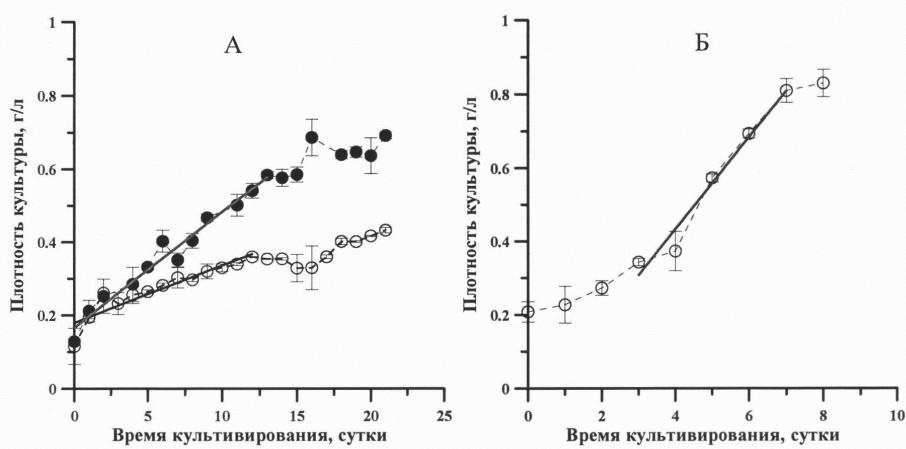
1. Gaignard C., Gargouch N., Dubessay P., Delattre C., Pierre G., Laroche C., Fendri I., Abdelkafi S., Michaud P. New horizons in culture and valorization of red microalgae // Biotechnol. Adv. 2019. V. 37, No. 1. P. 193-222.
- 5 2. Li S., Ji L., Shi Q., Wu H., Fan J. Advances in the production of bioactive substances from marine unicellular microalgae *Porphyridium* spp. // Bioresource Technology. 2019. V. 292. P. 1-12.
- 10 3. Castro-Varela P., Saez K., Gomez P.I. Effect of urea on growth and biochemical composition of *Porphyridium purpureum* (Rhodophyta) and scaling-up under non-optimal outdoor conditions // Phycologia. 2021. V. 60, No. 6. P. 572-581.
4. 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.
- 15 5. Schoeters F., Spit J., Swinnen E., De Cuyper A., Vleugels R., Noyens I., Van Mier S. Pilot-scale cultivation of the red alga *Porphyridium purpureum* over a two-year period in a greenhouse // Journal of Applied Phycology. 2023. Vol. 35. P. 2095-2109.
6. Тренкеншу Р.П., Терсков И.А., Фуряев Е.А., Ярунцов С.А. Ростовые и продукционные показатели водоросли *Porphyridium cruentum* в плотных культурах // 20 Интенсивная светокультура растений. Красноярск, 1977. С. 191-200.

(57) Формула изобретения

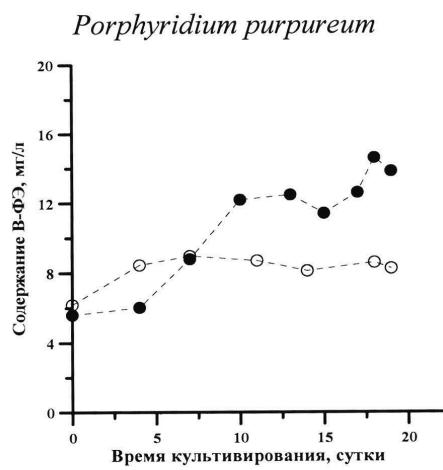
Способ полупромышленного культивирования красной микроводоросли *Porphyridium rügriegem*, включающий выращивание микроводоросли для получения биомассы, 25 отличающийся тем, что водоросли культивируют в весенний и осенне-зимний периоды в культиваторах, расположенных в теплице, методом накопительной культуры в открытых культиваторах с толщиной рабочего слоя 10 см в течение 13 сут в осенне-зимний период и в течение 8 сут в весенний период при естественном сезонном уровне освещенности и температуры и непрерывно осуществляемом перемешивании культуры 30 на питательной среде состава $\text{NaNO}_3 - 1,2 \text{ г}\cdot\text{л}^{-1}$, $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O} - 0,45 \text{ г}\cdot\text{л}^{-1}$, $\text{EDTA-Na}_2 - 0,037 \text{ г}\cdot\text{л}^{-1}$, $\text{FeC}_6\text{H}_5\text{O}_7 \times 3\text{H}_2\text{O} - 0,0265 \text{ г}\cdot\text{л}^{-1}$, $\text{MnCl}_2 \times 4\text{H}_2\text{O} - 0,004 \text{ г}\cdot\text{л}^{-1}$, $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \times 6\text{H}_2\text{O} - 0,0031 \text{ г}\cdot\text{л}^{-1}$, $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \times 4\text{H}_2\text{O} - 0,0009 \text{ г}\cdot\text{л}^{-1}$, $\text{K}_2\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_2 \times 4\text{H}_2\text{O} - 0,0017 \text{ г}\cdot\text{л}^{-1}$, 35 приготовленной на морской воде с добавлением в нее морской соли до конечной концентрации $28 \text{ г}\cdot\text{л}^{-1}$.

Porphyridium purpureum

Фиг. 1



Фиг. 2



Фиг. 3