



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:  
20.05.2024

Дата 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* (bory) (см. прод.)

(54) СПОСОБ ПОЛУПРОМЫШЛЕННОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ КРАСНОЙ МИКРОВОДОРОСЛИ  
PORPHYRIDIDIUM PURPUREUM

(57) Реферат:

Изобретение относится к области биотехнологии и представляет собой способ полупромышленного культивирования красной микроводоросли *Porphyridium purpureum*, относится к биотехнологии микроводорослей, а именно к интенсивному выращиванию красной морской микроводоросли *Porphyridium purpureum*, и предназначен для получения ее биомассы, обогащенной красным пигментом В-фикоэритрином. 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 температуры, при непрерывном перемешивании культуры

аквариумной помпой, на питательной среде на основе морской воды с добавлением морской соли до концентрации 28 г·л<sup>-1</sup>, имеющей состав: NaHCO<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>. 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.

RU 2 832 916 C1

RU 2 832 916 C1

(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

FEDERAL SERVICE  
FOR INTELLECTUAL PROPERTY(19) **RU** (11)  
(51) Int. Cl.  
*C12N 1/12* (2006.01)**2 832 916**<sup>(13)</sup> **C1**(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 issledovatel'skij  
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<sup>-1</sup>,

having the following composition: NaHCO<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>.

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

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

5 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*

45 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<sup>-1</sup>. При таком режиме культивирования *P. purpureum* средняя

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

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;

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  $\text{CO}_2$  в культуру;

10 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  $\text{O}_2$ , неравномерное распределение  $\text{CO}_2$ , 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 *P. purpureum* 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  $0,3 \text{ м} \cdot \text{с}^{-1}$ . Микроводоросли выращивали на среде с концентрацией азота  $400 \text{ мг} \cdot \text{л}^{-1}$  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  $0,30 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ , а содержание В-фикоэритрина (В-ФЭ) в биомассе -  $10,2 \text{ мг} \cdot \text{г}^{-1}$ . Средняя продуктивность культуры составила  $0,0214 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1} \cdot \text{сут}^{-1}$  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 *P. purpureum* при выращивании в открытых бассейнах при естественном уровне освещенности и температуры без дополнительного введения  $\text{CO}_2$  в культуру. Однако предложенный способ выращивания микроводоросли *P. purpureum* для получения биомассы имеет некоторые недостатки и ограничения. Наиболее важными из них являются:

40 а) более низкие продукционные показатели культуры *P. purpureum*: 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);

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

45 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  $100 \times 100 \text{ см}$ , расположенных в альгобиотехнологическом (тепличном) комплексе на питательной среде по Тренкеншу [Тренкеншу, 1977], приготовленной на черноморской воде, к которой добавлена морская соль до концентрации  $28 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ , и имеющей состав:  $\text{NaNO}_3 - 1,2 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ ,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O} - 0,45 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ ,  $\text{EDTA-Na}_2 - 0,037 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ ,  $\text{FeC}_6\text{H}_5\text{O}_7 \times 3\text{H}_2\text{O} - 0,0265 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ ,  $\text{MnCl}_2 \times 4\text{H}_2\text{O} - 0,004 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ ,  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \times 6\text{H}_2\text{O} - 0,0031 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ ,  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \times 4\text{H}_2\text{O} - 0,0009 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ ,  $\text{K}_2\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_2 \times 4\text{H}_2\text{O} - 0,0017 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ . 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:  $\text{NaNO}_3 - 1,2 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ ,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O} - 0,45 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ ,  $\text{EDTA-Na}_2 - 0,037 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ ,  $\text{FeC}_6\text{H}_5\text{O}_7 \times 3\text{H}_2\text{O} - 0,0265 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ ,  $\text{MnCl}_2 \times 4\text{H}_2\text{O} - 0,004 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ ,  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \times 6\text{H}_2\text{O} - 0,0031 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ ,  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \times 4\text{H}_2\text{O} - 0,0009 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ ,  $\text{K}_2\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_2 \times 4\text{H}_2\text{O} - 0,0017 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ , при приготовлении которой добавляют морскую соль до конечной концентрации в среде  $28 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ , 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 апробации процесса выращивания культур микроводорослей в пилотных 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.

5       Способ полупромышленного культивирования красной микроводоросли *Porphyridium purpureum* 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  
10       комплекса ФИЦ ИнБЮМ.

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

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

Для реализации предлагаемого изобретения и получения биомассы красной микроводоросли, культуру *P. purpureum* 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  
25       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  
30       для активного роста *P. purpureum* 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. purpureum* в тепличном модуле, находящемся на базе  
35       ФИЦ ИнБЮМ, получены накопительные кривые роста *P. purpureum* 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:

$$V = V_0 + P_m \cdot t,$$

40       где  $V_0$  - начальная плотность культуры.

Данные, характеризующие продуктивность накопительной культуры *P. purpureum* 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 <sup>-2</sup>	Содержание В-ФЭ, мг·г <sup>-1</sup>
	биомасса, г·м <sup>-2</sup> ·сут <sup>-1</sup>	В-ФЭ, мг·м <sup>-2</sup> ·сут <sup>-1</sup>		
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<sup>-1</sup>·л<sup>-1</sup> культуры.

Питательную среду по [Тренкеншу, 1977] имеющую 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>, 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<sup>-1</sup>. 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<sup>-1</sup>. 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. purpureum* 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. purpureum* при накопительном культивировании определялся конечным сбором биомассы, собираемой из культиваторов по окончании технологического цикла. Использование предлагаемого способа обеспечивает получение качественной биомассы красной микроводоросли *P. purpureum* 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. purpureum* в весенний период проводили следующим образом. Инокулят для засева открытых культиваторов получали согласно примеру 1. К полученному инокуляту добавляли питательную среду, таким образом, чтобы начальная плотность культуры составляла не менее  $0,2 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ . Высота слоя культуры 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 «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. purpureum* 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. purpureum* при накопительном культивировании определялся конечным сбором биомассы, собираемой из культиваторов по окончании технологического цикла. Использование предлагаемого способа обеспечивает получение качественной биомассы красной микроводоросли *P. purpureum* 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 purpureum*, биомасса которой является сырьем для получения БАВ и пигментов. Предлагаемый способ полупромышленного культивирования красной микроводоросли *Porphyridium purpureum* обеспечивает выход биомассы, а также содержание В-ФЭ в ней в 2 раза выше, чем в прототипе, при двухкратном снижении количеств 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.

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.

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.

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

## (57) Формула изобретения

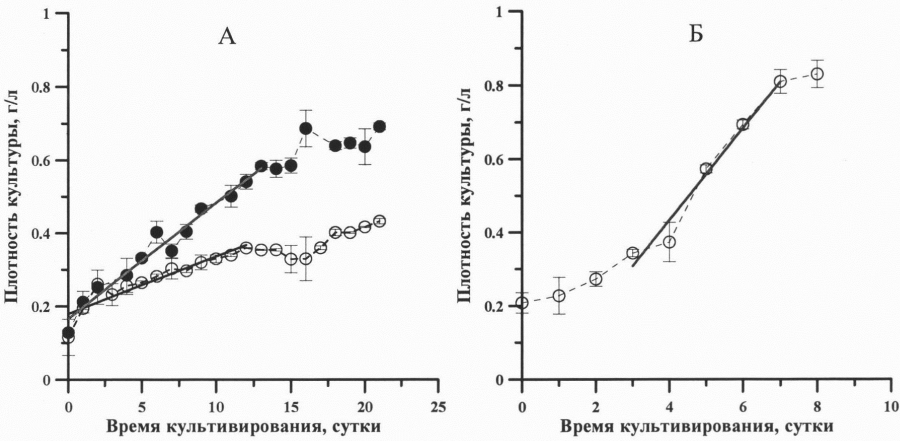
Способ полупромышленного культивирования красной микроводоросли *Porphyridium purpureum*, включающий выращивание микроводоросли для получения биомассы, отличающийся тем, что водоросли культивируют в весенний и осенне-зимний периоды в культиваторах, расположенных в теплице, методом накопительной культуры 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 на питательной среде состава  $\text{NaNO}_3$  -  $1,2 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ ,  $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times 2\text{H}_2\text{O}$  -  $0,45 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ ,  $\text{EDTA-Na}_2$  -  $0,037 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ ,  $\text{FeC}_6\text{H}_5\text{O}_7 \times 3\text{H}_2\text{O}$  -  $0,0265 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ ,  $\text{MnCl}_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$  -  $0,004 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ ,  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \times 6\text{H}_2\text{O}$  -  $0,0031 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ ,  $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \times 4\text{H}_2\text{O}$  -  $0,0009 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ ,  $\text{K}_2\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_2 \times 4\text{H}_2\text{O}$  -  $0,0017 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ , приготовленной на морской воде с добавлением в нее морской соли до конечной концентрации  $28 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$ .

1

*Porphyridium purpureum*

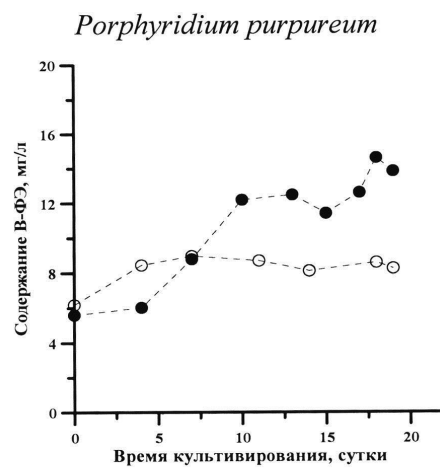


Фиг. 1



Фиг. 2

2



Фиг. 3