

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2022-5-4-289-297>

Поступила 18.09.2022

Поступила после рецензирования 19.10.2022

Принята в печать 24.10.2022

© Долганюк В. Ф., Каширских Е. В., Буденкова Е. А., Андреева А. П., Сухих С. А., 2022

<https://www.fsjour.com/jour>

Научная статья

Open access

ИССЛЕДОВАНИЕ МОРФОЛОГИЧЕСКИХ ПРИЗНАКОВ И ПАРАМЕТРОВ РОСТА ПСИХРОФИЛЬНЫХ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ И ЦИАНОБАКТЕРИЙ

Долганюк В. Ф., Каширских Е. В., Буденкова Е. А., Андреева А. П., Сухих С. А.*

Балтийский федеральный университет им. И. Канта

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:

микроводоросли, цианобактерии, культуральная среда, морфологические признаки, экзополисахариды, параметры роста

АННОТАЦИЯ

В настоящее время широкий интерес приобрел вопрос получения комплекса биологически активных веществ из микроводорослей. Известно, что микроводоросли способны производить значительное количество экзополисахаридов. Целью данного исследования являлось изучение морфологических признаков и параметров роста психрофильных микроводорослей и цианобактерий для последующего получения экзополисахаридов. Морфологию микроводорослей рассматривали с помощью бинокулярной микроскопии. Параметры роста изучали с помощью спектрофотометрии, параметры культуральной среды выявляли с помощью pH-метрии. Были построены экспоненциальные графические зависимости, показывающие динамику и ожидаемую скорость роста микроводорослей. Определяли скорость роста и биосинтеза полисахаридов микроводорослей при изменении освещенности от 50 до 130 ммоль/м²/сек. Наибольший уровень количества клеток в фазе жизненного цикла — логарифмического роста составил до 0,8 для *Scenedesmus obtusiusculus* Chod IPPAS S-329. Уровень клеток варьировался также в фазе жизненного цикла — замедленного роста от 0,25 для *Ankistrodesmus acicularis* Korsch IPPAS A-218 до 1,8 для *Scenedesmus obtusiusculus* Chod IPPAS S-329. Микроводоросли показали высокий уровень накопления биомассы в алкалофильных условиях. Эукариотические водоросли активно фотосинтезировали с pH более 8,0 и температурой 30 °С. Максимальная активность на уровне лаг-фазы роста pH 3,0/3,2 для C-1509 *Nannochloris* sp. Naumann составляет 100%. Микроводоросль C-1509 *Nannochloris* sp. Naumann показала высокий уровень накопления биомассы в алкалофильных условиях, они фотосинтезировали при pH более 8,0 и температуре 30 °С. Доказано, что нейтрофилы могут расти при pH ниже 3,0, это соответствует результатам экспериментов с коллекционными штаммами микроводорослей, с продуктивностью по биомассе 27,3%. При щелочном pH 8,3–9,0 продуктивность по биомассе снижалась с 46,0 до 37,2%. Особый интерес представляет то, что при щелочных значениях pH 7,5 и 8,0 продуктивность микроводорослей по биомассе увеличилась, что указывает на оптимальные условия роста в этом узком диапазоне pH. Способность микроводорослей продуцировать экзополисахариды открывает перспективы их использования в практических целях.

ФИНАНСИРОВАНИЕ: Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и Высшего образования Российской Федерации (грант Президента Российской Федерации), проект № МК-484.2022.1.4 (соглашение № 075–15–2022–393).

Received 18.09.2022

Accepted in revised 19.10.2022

Accepted for publication 24.10.2022

© Dolganyuk V. F., Kashirskikh E. V., Budenkova E. A., Andreeva A. P., Sukhikh S. A., 2022

Available online at <https://www.fsjour.com/jour>

Original scientific article

Open access

STUDY OF MORPHOLOGICAL FEATURES AND GROWTH PARAMETERS OF PSYCHROPHILIC MICROALGAE AND CYANOBACTERIA

Vyacheslav F. Dolganyuk, Egor V. Kashirskikh, Ekaterina A. Budenkova,

Anna P. Andreeva, Stanislav A. Sukhikh*

Immanuel Kant Baltic Federal University, Kaliningrad, Russia

KEY WORDS:

microalgae, cyanobacteria, culture medium, morphological features, exopolysaccharides, growth parameters

ABSTRACT

Recently, a question of producing a complex of biologically active substances from microalgae has aroused widespread interest. It is known that microalgae are able to produce a significant amount of exopolysaccharides. The aim of this work was to study morphological features and growth parameters of psychrophilic microalgae and cyanobacteria for the subsequent production of exopolysaccharides. The morphology of microalgae was observed using a binocular microscope. Growth parameters were studied by spectrophotometry; parameters of the culture medium were determined using a pH-meter. Exponential dependency graphs that show the dynamics and expected growth rate of microalgae were built. A rate of growth and polysaccharide biosynthesis in microalgae was determined upon changing the light intensity from 50 to 130 mmol/m²/s. The highest level of cell counts in the logarithmic growth phase was up to 0.8 for *Scenedesmus obtusiusculus* Chod IPPAS S-329. A level of cells also varied in the deceleration phase from 0.25 for *Ankistrodesmus acicularis* Korsch IPPAS A-218 to 1.8 for *Scenedesmus obtusiusculus* Chod IPPAS S-329. Microalgae showed a high level of biomass accumulation under alkaliphilic conditions. Eukaryotic algae actively photosynthesized at a pH of more than 8.0 and a temperature of 30 °C.

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Долганюк, В. Ф., Каширских, Е. В., Буденкова Е. А., Андреева А. П., Сухих, С. А., (2022). Исследование морфологических признаков и параметров роста психрофильных микроводорослей и цианобактерий. *Пищевые системы*, 5(4), 289–297. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2022-5-4-289-297>

FOR CITATION: Dolganyuk, V. F., Kashirskikh, E. V., Budenkova E. A., Andreeva, A. P., Sukhikh, S. A., (2022). Study of morphological features and growth parameters of psychrophilic microalgae and cyanobacteria. *Food Systems*, 5(4), 289–297. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2022-5-4-289-297>

The maximum activity at the level of pH 3.0/3.2 in the lag phase was 100% in C-1509 *Nannochloris* sp. Naumann. Microalga C-1509 *Nannochloris* sp. Naumann showed a high level of biomass accumulation under alkaliphilic conditions; it photosynthesized at a pH of more than 8.0 and a temperature of 30 °C. It has been proved that neutrophiles can grow at pH lower than 3.0; this corresponds to the results of the experiments with the collection strains of microalgae with biomass productivity of 27.3%. At the alkaline pH values of 8.3–9.0, biomass productivity reduced from 46.0 to 37.2%. It is especially interesting that at the alkaline pH values of 7.5 and 8.0 biomass productivity of microalgae increased, which indicates the optimal growth conditions at this narrow pH range. An ability of microalgae to produce exopolysaccharides opens prospects of their use for practical purposes.

FUNDING: The work was supported financially by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (grant of the President of the Russian Federation), project no. MK-484.2022.1.4 (agreement no. 075–15–2022–393).

1. Введение

В настоящее время широкий интерес приобрел вопрос получения комплекса биологически активных веществ с антиоксидантной активностью из макро- и микроводорослей [1–3]. Несмотря на многие преимущества промышленного культивирования микроводорослей, мировое производство микроводорослей составляет менее 20 тыс. т/год. Стоимость производства — 3–5 евро на килограмм биомассы водорослей на площади 100 га, что довольно велико по сравнению с выращиванием высших растений (0,2–0,35 евро на килограмм). Учитывая разнообразный биохимический состав некоторых микроводорослей, можно утверждать, что технологии микроводорослей имеют высокий коммерческий потенциал. Промышленное получение продуктов на основе водорослей в настоящее время мало доступно, однако положение дел в рамках мирового рынка быстро меняется под воздействием различных факторов, включая экономический [4,5]. Например, большее значение могут приобрести вопросы использования не возобновляемых ресурсов (в том числе пищевых), таких как почва и пресная вода, а также проблема их воздействия на окружающую среду и здоровье человека.

Микроводоросли, являясь одноклеточными фотосинтезирующими микроорганизмами, преобразуют солнечную энергию в биомассу с более эффективно, чем наземные растения [6–8]. Основными производимыми видами микроводорослей являются *Arthrospira platensis*, *Aphanizomenon*; микроводорослей — *Chlorella vulgaris*, *Dunaliella salina*, *Isochrysis galbana*, *Bannochloropsis salina*, *Phaeodactylum tricornutum*, *Porphyridium cruentum* и *Haematococcus pluvialis*. Они находят применение в производстве кормов для рыбы и сельскохозяйственных животных, органических удобрений, а также ценных экстрактов полиненасыщенных жирных кислот, пигментов, нутрицевтиков, антиоксидантов, противораковых и антимикробных агентов [9–12].

Микроводоросли рассматриваются как новый источник ценных химических веществ, что привело к развитию технологий производства (фотобиореакторы) и переработки биомассы микроскопических водорослей [13,14]. Возможности использования биомассы микроводорослей и их метаболитов, таких как полисахариды, в биотехнологических производствах приводят к стабильному снижению себестоимости продуктов биосинтеза. К эукариотическим и прокариотическим микроводорослям, продуцирующим и выделяющим большое количество полисахаридов в окружающую среду, относятся *Amphora rostrata*, *Amphora holsatica*, *Coscinodiscus nobilis*, *Cylindrotheca closterium*, *Melossira nummuloides*, *Navicula salinarum*, *Navicula subinflata*, *Phaeodactylum tricornutum*, *Botryococcus braunii*, *Chlamydomonas sajabo*, *Dunaliella salina*, *Chlorella pyrenoidosa* и др. Экзополисахариды — это высокомолекулярные полимеры, состоящие из остатков сахаров, которые секретируются микроводорослями в окружающую среду и могут служить барьером между клетками и окружающей средой [15–17].

Экзополисахариды морских цианобактерий и микроводорослей выгодно отличаются от полисахаридов из наземных бактерий и от растений тем, что для морских цианобактерий и микроводорослей можно создать определенные воспроизводимые контролируемые параметры производства, в результате чего исключается экологическое воздействие и достигается высокое качество конечного продукта [18,19]. В последние годы исследования большинства ученых нацелены на изучение экзополисахаридов из цианобактерий и микроводорослей. Считается, что поскольку эти микробы выживают в сложных условиях высокой или низкой температуры, высокого атмосферного давления, то следует ожидать от экзополисахаридов, полученных из них, уникальных свойств. Такие экзополисахариды, в отличие от полисахаридов клеточной стенки и внутриклеточного крахмала или хризоламинарина, имеют сложную структуру, часто включая от 9 до 12 различных моносахаридов и несколько не углеводных составляющих [20]. Эта структурная сложность ограничивает их исследования, несмотря на интерес научного сообщества к их биологической активности и потенциалу использования в качестве гидроколлоидов в различных отраслях. Экзополисахариды редко рассматриваются авторами как ценные как ценные молекулы: скорее, как побочные продукты при получении пигментов или липидов. Хорошо изученный штамм *Porphyridium* фактически используется для получения β-фикоэритрина, и только небольшая часть биомассы штамма предназначена для обеспечения косметической отрасли экзополисахаридами [21–23].

Известно, что микроводоросли являются значительными производителями экзополисахаридов в диапазоне от около 0,5 г/л до 20 г/л, но очень немногие исследования изучали их производство [24–26]. Проводились некоторые исследования, посвященные выбору условий культивирования микроводорослей для оптимизации производства экзополисахаридов. Процесс экстракции экзополисахаридов из биомассы микроводорослей часто не приспособлен к обработке этих плохо растворимых полимеров, которые нередко образуются в среде с высоким содержанием солей [27–29]. Обнаружение продуцентов полисахаридов — трудоемкий процесс, поскольку они часто синтезируются микроводорослями только при специфических условиях культивирования (например, азотное голодание) или в специфических фазах роста, некоторые из них имеют статус вторичных метаболитов [30]. Качественная и количественная оценка вязкости культуральной среды при росте микроводорослей может служить хорошим индикатором высвобождения биополимеров клеткой и показателем их концентраций [31,32]. К выявленным биологическим активностям экзополисахаридов, продуцируемым микроводорослями, относят противовоспалительную, иммуномодулирующую, противоопухолевую, противовирусную, противопаразитарную, антиоксидантную, гипогликемическую и гипохолестеринемическую. Высокая стоимость и отсутствие понимания структур этих экзополисахаридов ограничивают их использование в меропр-

ятях терапии и профилактики, а также их применение в питании человека и животных. Одним из способов повышения экономической конкурентоспособности может стать накопление знаний о культивировании и характеристиках микроводорослей, о развитии технологий производства экзополисахаридов, способах их извлечения а также накопление информации об аналитических процедурах для описания их характеристик [33–35].

Целью данного исследования являлось изучение морфологических признаков и параметров роста психрофильных микроводорослей и цианобактерий для последующего получения экзополисахаридов.

2. Объекты и методы

Микроводоросли *Scenedesmus obtusiusculus* Chod, *Chlorella* sp. Beijer, *Nannochloris* sp. Naumann, *Ankistrodesmus acicularis* Korsch приобретали из стандартных образцов Коллекции микроводорослей и цианобактерий IPPAS ИФР РАН (УНУ КМЦ IPPAS ИФР РАН) Минобрнауки России и высевали на жидкие питательные среды.

Микроводоросли *Scenedesmus quadricauda* Chod культивировали на питательной среде Успенского, состав которой приведен в Таблице 1.

Таблица 1. Состав питательной среды Успенского — основные компоненты

Table 1. Composition of the Uspensky culture medium — the main components

№ п/п	Реактивы	Содержание в среде для культивирования, г/л
1	KNO ₃	0,025
2	MgSO ₄ × 7H ₂ O	0,025
3	KH ₂ PO ₄ × 3H ₂ O	0,025
4	K ₂ CO ₃	0,0345
5	Ca(NO ₃) ₂ × 4H ₂ O	0,144

Микроводоросли *Chlorella* sp. Beijer и *Nannochloris* sp. Naumann культивировали на среде Тамия, состав которой представлен в Таблице 2.

Таблица 2. Состав питательной среды Тамия — основные компоненты

Table 2. Composition of the Tamiya culture medium — the main components

№ п/п	Реактивы	Содержание в среде для культивирования, г/л
1	KNO ₃	5,0
2	MgSO ₄ × 7H ₂ O	2,5
3	KH ₂ PO ₄	1,25
4	ЭДТА	0,0345
5	FeSO ₄ × 7H ₂ O	0,009
6	раствор микроэлементов	1 мл
7	agar-agar	20,0

Микроводоросли *Ankistrodesmus acicularis* Korsch культивировали на среде Ben-Amotz. Состав данной среды представлен в Таблице 3.

Питательные среды приобретали в ООО «Биомедиа», Санкт-Петербург, Россия.

Далее проводили культивирование и скрининг микроводорослей-продуцентов по накоплению биомассы и целевых продуктов (углеводно-минеральный комплекс), пригодных для культивирования в лабораторных условиях. Для подсчета клеток микроскопических водорослей использовали бинокулярный микроскоп Micros (Австрия) с увеличением 40–1600 крат. На данном микроскопе можно изучать окрашенные и неокрашенные препараты в виде мазков

и гистологических срезов, а также биологических жидкостей в камере Горяева [36,37]. С помощью цифровой камеры для микроскопа TourCam U3CMOS03100KPA (max разрешение: 2048 x 1534 точек, скорость съемки 27,3–53,3 кадров/сек, Китай) производили фотосъемку клеток микроводорослей [36]. Данная камера позволила перенести фотографии в компьютер и для вывода на экран персонального компьютера цветного изображения, наблюдаемого в микроскоп при проведении лабораторных исследований. С помощью данного микроскопа с использованием камеры Горяева была построена калибровочная кривая — отношение количества клеток водорослей в суспензии от ее оптической плотности.

Таблица 3. Состав питательной среды Ben-Amotz — основные компоненты

Table 3. Composition of the Ben-Amotz culture medium — the main components

№ п/п	Реактивы	Содержание в среде для культивирования, г/л
1	KNO ₃	0,505
2	MgSO ₄ × 7H ₂ O	1,23
3	KH ₂ PO ₄	0,038
4	NaCl	58,5
5	CaCl ₂ × 2H ₂ O	0,147
6	Na ₂ ЭДТА	0,04
7	FeCl ₃ × 6H ₂ O	0,00054
8	MnCl ₂ × 4H ₂ O	0,0001
9	CuCl ₂ × H ₂ O	0,0001
10	ZnCl ₂ × H ₂ O	0,0001
11	CoCl ₂ × 6H ₂ O	0,0001
12	(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ × 4H ₂ O	0,0012
13	NaHCO ₃	4,2

Для построения калибровочной кривой и подсчета оптической плотности в суспензии применялся спектрофотометр SolidSpec-3700/3700 DUV, (Shimadzu, Япония). Спектрофотометр SolidSpec-3700/3700 DUV предназначен для измерения спектральных коэффициентов пропускания жидких и твердых веществ в области спектра от 190 до 1100 нм. Использовали длину волны 750 нм. В качестве образцов сравнения использовали суспензии микроводорослей различных известных концентраций.

Микроводоросли культивировали в накопительном режиме — фотобиореакторе, заполненном питательной средой, содержащей необходимые для роста биогенные элементы. В среды вносили небольшое количество инокулята — 20% от объема питательной среды. Анализ скорости роста микроводорослей проводили с учетом времени и увеличения концентрации клеток до максимальной плотности культуры.

Биомасса микроводорослей в колбе в статическом положении, в колбе на шейкере и фотобиореакторе была выражена в единицах — число клеток и количество полисахаридов в г/л.

Штаммы микроводорослей культивировали на различных средах при регулируемом освещении 8/16 (свет/темнота) и при температуре 25–30 °С в конических колбах с объемом среды 250–5000 мл. Определяли скорость роста и биосинтеза полисахаридов микроводорослей при изменении освещенности от 50 до 130 ммоль/м²/сек. Продолжительность эксперимента — 7 сут. Микроэлементы (Mn, Cu, Zn, Co, Mo) в среды Тамия и Успенского добавляли в количестве 1 мл раствора на 1 л питательной среды; среду и микроэлементы стерилизовали при 1 атм. 20 мин. Диапазон pH измеряли лабораторным pH-метром модели Starter 300 (USA).

Сухую биомассу микроводорослей получали с помощью лиофильной сушилки «Иней-6» (ООО «Пушинские лаборатории», Пушкино, Россия), обеспеченной режимом ускоренного удаления замороженного льда. Скорость сушки составляла не менее 60 г/ч при полной загрузке, давление в вакуумной системе сушилки без высушиваемого образца не выше 6,66 Па, температура конденсирующей поверхности минус 40 +/- 5 °С.

Продуктивность полисахаридов при культивировании микроводорослей определяли методом спектрофотометрии. Предварительно полисахариды экстрагировали из биомассы микроводорослей. Наличие и количественную оценку полисахаридов из микроводорослей *Scenedesmus obtusiusculus* Chod, *Chlorella* sp. Beijerinck, *Nannochloris* sp. Naumann, *Ankistrodesmus acicularis* Korsch проводили антросульфатным методом. Для этого в каждую лунку микропланшета (ООО «ДВ-эксперт», Москва, Россия), содержащего 50 мкл образцов, вносили по 150 мкл антронового агента (0,1% раствор перекристаллизованного антрона в концентрированной серной кислоте). Затем планшеты помещали в холодильник Pozis RK-102 S (ООО «Даймонд Электрик», Москва, Россия) на 10 мин при температуре 4 °С. После охлаждения образцы инкубировали в термостате А-24 (ООО «Миллаб», Москва, Россия) в течение 20 мин при температуре 70 °С. После нагрева образцы охлаждали до комнатной температуры.

Оптическую плотность измеряли при 620 нм. Стандартную кривую строили с использованием растворов сахарозы [37]. Полисахариды экстрагировали из образцов культуральной жидкости изопропиловым спиртом в соотношении 1:2 при температуре минус 20 °С. После экстракции образцы центрифугировали при 3900 об/мин в течение 20 мин и собирали надосадочную жидкость. Суммарный выход полученных нами полисахаридов определяли гравиметрически. Полученный раствор лиофилизировали в течение 48 ч при температуре минус 20 °С, давлении 0,350 мбар.

Все химические реактивы, использованные в исследовании, были реагентами класса ACS (Sigma Aldrich, США). Все растворы были приготовлены с использованием очищенной деионизированной воды MilliQ (MilliporeSigma, США).

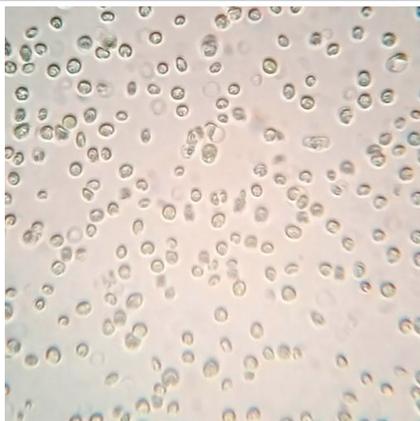
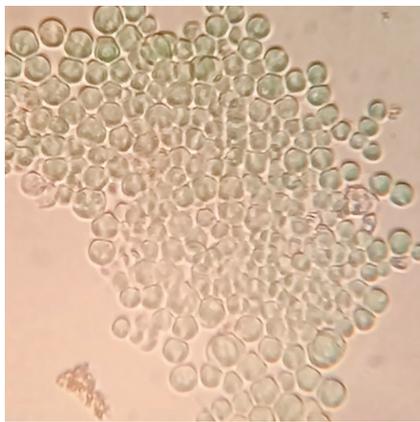
3. Результаты и обсуждение

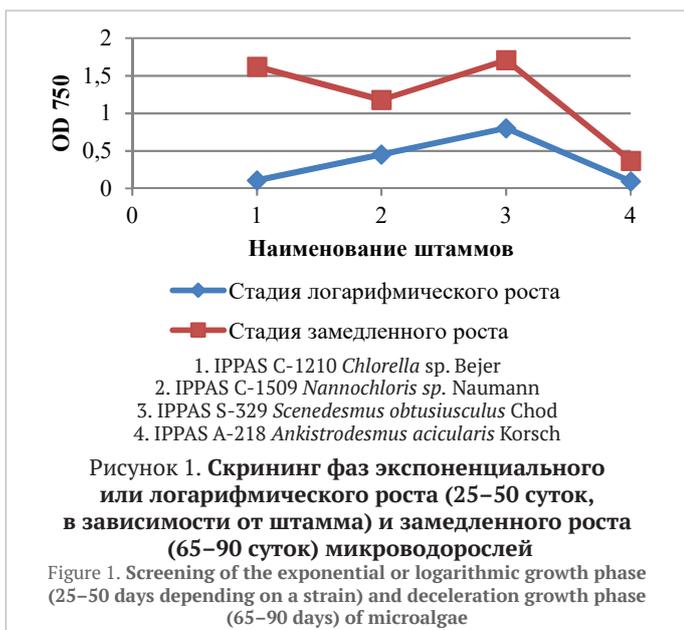
В Таблице 4 представлен морфологический скрининг штаммов микроводорослей.

Анализ экспоненциальных графических зависимостей показывал динамику и ожидаемую скорость роста микроводорослей и цианобактерий во время тестирования. На Рисунке 1 представлены экспоненциальные зависимости скорости роста микроводорослей от значений оптической плотности биомассы.

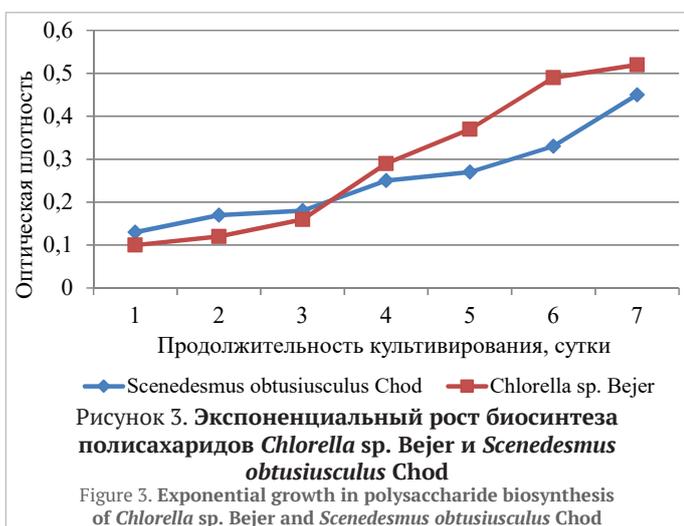
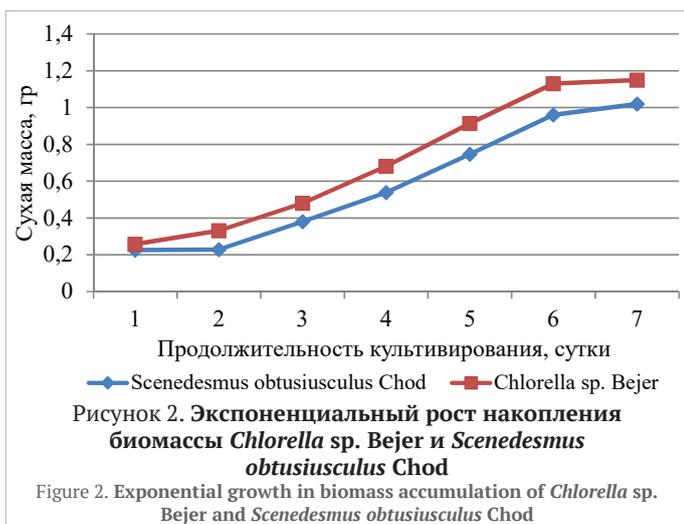
Таблица 4. Морфологический скрининг штаммов микроводорослей

Table 4. Morphological screening of microalga strains

1. <i>Nannochloris</i> sp. Naumann; IPPAS C-1509	2. <i>Chlorella</i> sp. Beijerinck; IPPAS C-1210
	
<p>Форма: одиночная, сферическая или эллипсоидальная; Размер: 2–3 μm; Цвет: зеленый; Особенности: одиночный хлоропласт, занимает более половины объема клетки и содержит хлорофилл а, полностью лишен хлорофилла b и хлорофилла c</p>	<p>Форма: одиночная, сферическая; Размер: 3–5 μm; Цвет: зеленый; Особенности: хлоропласты содержат хлорофилл а и хлорофилл b; хроматофор крупный, до 90% от объема клетки</p>
3. <i>Scenedesmus obtusiusculus</i> Chod; IPPAS S-329	4. <i>Ankistrodesmus acicularis</i> Korsch IPPAS A-218
	
<p>Форма: округлая или эллипсоидная с заостренными концами, частицы образуют ценобии; Размер: 5–40 μm; Цвет: зеленый</p>	<p>Форма — одиночные, имеют шаровидную форму, неподвижные Размер — 2–6 μm; Цвет — голубовато-зеленые; Особенности — содержат фотосинтетический пигмент фикоэритрин в дополнение к хлорофиллу</p>



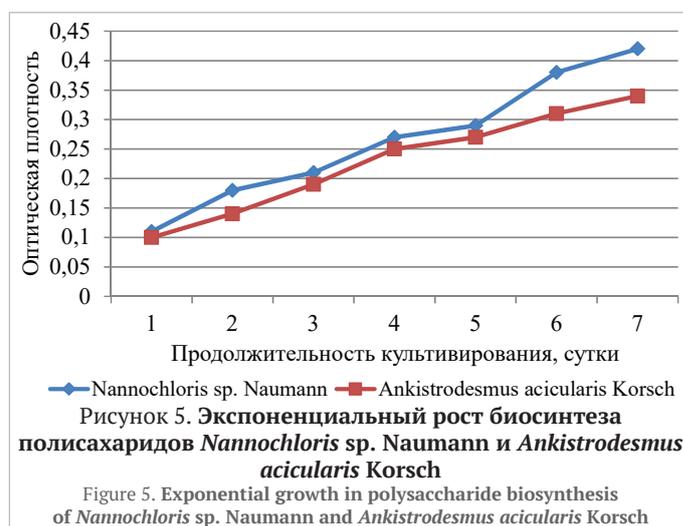
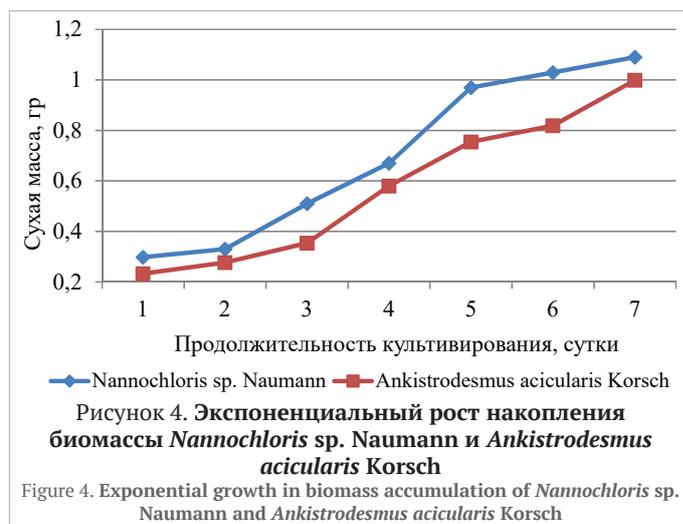
Установлено, что в лабораторных условиях рост микроводорослей ограничен. Особенно наглядно это проявляется при изучении ростовых значений микроводорослей – среднего значения количества клеток на 1 мл питательной среды (OD-750). Наибольший уровень количества клеток в фазе жизненного цикла – логарифмического роста составил до 0,8 для *Scenedesmus obtusiusculus* Chod IPPAS S-329.



Уровень клеток варьировался также в фазе жизненного цикла – замедленного роста от 0,25 для *Ankistrodesmus acicularis* Korsch IPPAS A-218 до 1,8 для *Scenedesmus obtusiusculus* Chod IPPAS S-329.

Экспоненциальный рост показывал прямую линию при использовании логарифмической шкалы, и наклон линии указывал на определенную скорость роста и биосинтеза полисахаридов микроводорослей и (или) цианобактерий (Рисунки 2–5).

Рассматривая рост штамма в общем случае, необходимо учитывать процессы, происходящие в клетке микроводоросли, которые не связаны напрямую с биосинтезом полисахаридов. К таким процессам относится механизм поддержания структуры таллома. Этот механизм у микроводорослей мало изучен. Известно, что при низких интенсивностях света в клетках явно наблюдается так называемое «темновое» дыхание, сопровождающееся поглощением кислорода и уменьшением биомассы клеток. Выделение кислорода и рост микроводорослей начинаются только после увеличения интенсивности света выше некоторой величины (соответствующей компенсационной фазе фотосинтеза), при которой скорости выделения и поглощения кислорода равны. В общем случае рост и биосинтез компонентов клетки являются результатом двух процессов: собственно фотосинтеза и дыхания. Расходы на дыхание, связанные с ростом («фотодыхание»), пропорциональны «чистому» фотосинтезу, их трудно вычлениить из общего процесса; обычно во время моделирования микроклимата при выращивании микроводорослей подразумевается, что «чистый» фотосинтез уже



включает этот процесс. Поэтому рост можно рассматривать как разность двух процессов: «чистого» фотобиосинтеза и «темнового» дыхания.

Ранее было отмечено [38,39], что в условиях культивирования на шейкере, валовая продуктивность микроводорослей линейно возрастала с ростом освещенности в диапазоне плотность потока фотонов (ППФ) 50–80 ммоль/м²/сек, однако при сверхвысоких ППФ 130 ммоль/м²/сек продуктивность отклонялась от линейной зависимости из-за возможной фотодеструкции пигментов и ингибирования фотосинтеза в данных условиях. В вариантах с освещенностью 50–130 ммоль/м²/сек на 7 сутки эксперимента начиналась фаза отмирания. Наиболее резкое снижение плотности культуры наблюдалось в варианте с наибольшей освещенностью 130 ммоль/м²/сек. В вариантах с меньшими значениями освещенности 50 ммоль/м²/сек снижение скорости роста происходило медленнее, с выраженной фазой замедления роста на накопительной кривой. Максимальная плотность культуры не различалась существенно при нескольких вариантах освещенности, при этом время достижения максимальной биомассы отличалось.

Культивирование штаммов фототрофных микроводорослей сопровождается активным массообменом. Питательная среда характеризуется электрохимическими показателями: рН и окислительно-восстановительным потенциалом (Eh). Активный транспорт протонов в электрохимической цепочке ведет к защелачиванию среды с выделением низкопотенциального тионеина, снижающего редокс-потенциал среды, особенно в лаг-фазный период развития штаммов микроводорослей, что связано с подготовкой популяции к клеточному делению и активному накоплению биомассы [40]. Микроводоросли показали высокий уровень накопления биомассы (продуктивность) при рН — 8,5/8,1 (рН – начало/завершение культивирования). Продуктивность C-1509 *Nannochloris* sp. Naumann — 72,61%. Эти эукариотические водоросли активно фотосинтезировали с рН более 8,0 и при температуре 30 °С (Рисунок 1).

Максимальная активность на уровне лаг-фазы роста имеет показатель рН 3,0/3,2 и составляет 100%. Микроводоросль C-1509 *Nannochloris* sp. Naumann с оптимальным рН для роста между 2,0 и 3,0 приспособилась к низкой интенсивности освещения 50 ммоль/м²/сек за счет увеличения концентрации зеленого пигмента. Фотосинтез адаптирован к пониженной интенсивности света и ингибировал активность при высокой интенсивности света. При добавлении глюкозы (1г/л) в «темновой» фазе культивирования концентрация хлорофилла снижалась. При дальнейшем культивировании в условиях освещения 50 ммоль/м²/сек в присутствии глюкозы хлорофилл не синтезировался и продолжался гетеротрофный рост; при исклечении глюкозы происходил синтез пигмента и возобновлялся автотрофный рост.

Таким образом, при культивировании в ацидофильных условиях с добавлением глюкозы уровень хлорофилла не увеличивался, что сопровождалось снижением продуктивности по биомассе. Физический параметр рН является важным фактором в питательных средах. Помимо химических свойств питательной среды, рН связан с гидролизом CO₂ и биодеграцией водорастворимых серосодержащих загрязнителей. Обычно низкий уровень рН подавляет рост микроводорослей. Принимая во внимание, что изменение рН из-за CO₂ имеет лишь незначительное значение, то серосодержащие ионы значительно меняют показатель рН и снижают продуктивность по биомассе. Корреляция значений рН с достижением необходимого уровня проводили забуференной средой.

Известно, что Maeda и др. [41] добавили CaCO₃ в питательную среду для корректировки уровня рН и с целью гибели микроводорослей [42]. Большинство видов микроводорослей имеют собственные оптимальные диапазоны рН, при которых они растут. У исследованных коллекционных штаммов микроводорослей из группы нейтрофилов обнаружена возможность адаптации к разному значению рН от экстремально кислых до щелочных условий. После привыкания к изменившимся условиям культивирования некоторые штаммы микроводорослей перенесли низкие значения рН. Ученые Баретто и Майер доказали [43], что нейтрофилы могут расти при рН ниже 3,0, это соответствует полученным нами результатам с коллекционными штаммами микроводорослей, с продуктивностью по биомассе 27,3%. Кавита и др. [44] измерили влияние рН на рост микроводорослей, они обнаружили, что крайние значения кислого (3,0–6,2) и щелочного (8,3–9,0) рН угнетают рост и биосинтез культур [45]. Оптимальный рост и накопление биомассы возможны при нейтральных значениях рН 7,5 и 8,0. Анализ полученных результатов показывает, что при рН 6,9 C-1210 *Chlorella* sp. Beijer., увеличивались до 100% роста. При этом в кислых условиях (рН 3–5) их рост снижался до 27,3–55,0% (Рисунок 1). Кроме того, при щелочном рН 8,3–9,0 продуктивность по биомассе снижалась с 46,0 до 37,2%. Особый интерес представляет то, что при щелочных значениях рН 7,5 и 8,0 продуктивность по биомассе увеличилась, что указывает на оптимальные условия роста в этом узком диапазоне рН [46].

4. Выводы

В результате проведенных исследований были изучены морфологические признаки и параметры роста психрофильных микроводорослей и цианобактерий для последующего получения экзополисахаридов. Для этого микроводоросли из стандартных образцов Коллекции микроводорослей и цианобактерий ИПАС ИФР РАН (УНУ КМЦ ИПАС ИФР РАН) Минобрнауки России (*Scenedesmus obtusiusculus* Chod, *Chlorella* sp. Beijer, *Nannochloris* sp. Naumann, *Ankistrodesmus acicularis* Korsch) высевали на жидкие питательные среды. Морфологический скрининг показал, что все клетки, исследуемых микроводорослей, имеют сферическую или эллипсоидальную формы, способны образовывать колонии и накапливать хлорофилл. Наибольший уровень количества клеток в фазе жизненного цикла — логарифмического роста составил до 0,8 для *Scenedesmus obtusiusculus* Chod IPPAS S-329.

Уровень клеток варьировался также в фазе жизненного цикла — замедленного роста от 0,25 для *Ankistrodesmus acicularis* Korsch IPPAS A-218 до 1,8 для *Scenedesmus obtusiusculus* Chod IPPAS S-329 (Рисунок 1).

Микроводоросли показали высокий уровень накопления биомассы в алкалофильных условиях. Эукариотические водоросли активно фотосинтезировали с рН более 8,0 и температурой 30 °С. Максимальная активность на уровне лаг-фазы роста рН 3,0/3,2 для C-1509 *Nannochloris* sp. Naumann составляет 100%. Микроводоросль C-1509 *Nannochloris* sp. Naumann показала высокий уровень накопления биомассы в алкалофильных условиях, они фотосинтезировали при рН более 8,0 и температуре 30 °С. Данная микроводоросль приспособилась к низкой интенсивности освещения 50 ммоль/м²/сек за счет увеличенной концентрации зеленого пигмента. Установлено, что при рН 6,9 C-1210 *Chlorella* sp. Beijer., увеличивались до 100% роста. При этом в кислых условиях (рН 3–5) их рост снижался до 27,3–55,0%

Установлено, что микроводоросли способны продуцировать экзополисахариды, что открывает перспективы их использования в практических целях.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Rizwan, M., Mujtaba, G., Memon, S. A., Lee, K., Rashid, N. (2018). Exploring the potential of microalgae for new biotechnology applications and beyond: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 92, 394–404. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.04.034>
- Villarruel-Lopez, A., Ascencio, F., Nuno, K. (2017). Microalgae, a potential natural functional food source — A review. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 67(4), 251–263. <https://doi.org/10.1515/pjfn-2017-0017>
- Sprague, M., Betancor, M. B., Tocher, D. R. (2017). Microbial and genetically engineered oils as replacements for fish oil in aquaculture feeds. *Biotechnology Letters*, 39(11), 1599–1609. <https://doi.org/10.1007/s10529-017-2402-6>
- Ferreira, G. F., Ríos Pinto, L. F., Maciel Filho, R., Fregolente, L. V. (2019). A review on lipid production from microalgae: Association between cultivation using waste streams and fatty acid profiles. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 109, 448–466. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2019.04.052>
- Scharff, C., Domurath, N., Wensch-Dorendorf, M., Schröder, F.-G. (2017). Effect of different photoperiods on the biochemical profile of the green algae *C. vulgaris* and *S. obliquus*. *Acta Horticulturae*, 1170, 1149–1156. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2017.1170.148>
- Borowitzka, M. A. (2013). High-value products from microalgae — their development and commercialization. *Journal of Applied Phycology*, 25(3), 743–756. <https://doi.org/10.1007/s10811-013-9983-9>
- Suganya, T., Varman, M., Masjuki, H. H., Renganathan, S. (2016). Macroalgae and microalgae as a potential source for commercial applications along with biofuels production: A biorefinery approach. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 55, 909–941. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.11.026>
- Santiago-Morales, I. S., Trujillo-Valle, L., Márquez-Rocha, F. J., Hernández, J.F.L. (2018). Tocopherols, phycocyanin and superoxide dismutase from microalgae: As potential food antioxidants. *Applied Food Biotechnology*, 5(1), 19–27. <https://doi.org/10.22037/afb.v5i1.17884>
- Hu, J., Nagarajan, D., Zhang, Q., Chang, J.-S., Lee, D.-J. (2018). Heterotrophic cultivation of microalgae for pigment production: A review. *Biotechnology Advances*, 36(1), 54–67. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2017.09.009>
- Mazumdar, N., Novis, P. M., Visnovsky, G., Gostomski, P. A. (2019). Effect of nutrients on the growth of a new alpine strain of *Haematococcus* (Chlorophyceae) from New Zealand. *Phycological Research*, 67(1), 21–27. <https://doi.org/10.1111/pre.12344>
- Mantzorou, A., Ververidis, F. (2019). Microalgal biofilms: A further step over current microalgal cultivation techniques. *Science of the Total Environment*, 651, 3187–3201. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.355>
- Nguyen, H. C., Su, C.-H., Yu, Y.-K., Huang, D. T. M. (2018). Sugar cane bagasse as a novel carbon source for heterotrophic cultivation of oleaginous microalga *Schizochytrium* sp. *Industrial Crops and Products*, 121, 99–105. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.05.005>
- Lafarga, T. (2019). Cultured microalgae and compounds derived thereof for food applications: Strain selection and cultivation, drying, and processing strategies. *Food Reviews International*, 36(6), 559–583. <https://doi.org/10.1080/87559129.2019.1655572>
- Li, Z., Li, Y., Zhang, X., Tan, T. (2015). Lipid extraction from non-broken and high water content microalgae *Chlorella* spp. by three-phase partitioning. *Algal Research*, 10, 218–223. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2015.04.021>
- Zhao, G., Chen, X., Wang, L. Zhou, S., Feng, H., Chen, W. N. et al. (2013). Ultrasound assisted extraction of carbohydrates from microalgae as feedstock for yeast fermentation. *Bioresour Technology*, 128, 337–344. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.10.038>
- Bleakley, S., Hayes, M. (2017). Algal proteins: extraction, application, and challenges concerning production. *Foods*, 6(5), Article 33, 1–34. <https://doi.org/10.3390/foods6050033>
- Chen, J., Li, J., Dong, W., Zhang, X., Tyagi, R. D., Drogui, P. et al. (2018). The potential of microalgae in biodiesel production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 90, 336–346. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.03.073>
- Su, Y., Song, K., Zhang, P. Su, Y., Cheng, J., Chen, X. (2017). Progress of microalgae biofuel's commercialization. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 74, 402–411. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2016.12.078>
- Amorim, M. L., Soares, J., Coimbra, J. S. D. R., Leite, M. D. O., Albino, L. F. T., Martins, M. A. (2020). Microalgae proteins: Production, separation, isolation, quantification, and application in food and feed. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61(12), 1976–2002. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1768046>
- Phong, W. N., Show, P. L., Ling, T. C., Juan, J. C., Ng, E.-P., Chang, J.-S. (2018). Mild cell disruption methods for bio-functional proteins recovery from microalgae — Recent developments and future perspectives. *Algal Research*, 31, 506–516. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2017.04.005>
- Zielinski, D., Fraczyk, J., Debowski, M., Zielinski, M., Kaminski, Z., Kregiel, D. et al. (2020). Biological activity of hydrophilic extract of *Chlorella vulgaris* grown on post-fermentation leachate from a biogas plant supplied with stillage and maize silage. *Molecules*, 25(8), Article 25081790. <https://doi.org/10.3390/molecules25081790>
- Frazzini, S., Scaglia, E., Dell'anno, M., Reggi, S., Panseri, S., Giromini, C. et al. (2022). Antioxidant and antimicrobial activity of algal and cyanobacterial extracts: An in vitro study. *Antioxidants*, 11, Article 992. <https://doi.org/10.3390/antiox11050992>
- Селиванова, Е. А., Игнатенко, М. Е., Немцева, Н. В. (2014). Антагонистическая активность новых штаммов зеленых микроводорослей. *Журнал микробиологии эпидемиологии и иммунобиологии*, 4, 72–76.
- Pina-Pérez, M. C., Rivas, A., Martínez, A., Rodrigo, D. (2017). Antimicrobial potential of macro and microalgae against pathogenic and spoilage microorganisms in food. *Food Chemistry*, 235, 34–44. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.05.033>
- Singh, M., Singh, S., Prasad, S., Gambhir, I. (2008). Nanotechnology in medicine and antibacterial effect of silver nanoparticles. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 3(3), 115–122.
- Ru, I. T. K., Sung, Y. Y., Jusoh, M., Wahid, M. E. A., Nagappan, T. (2020). *Chlorella vulgaris*: a perspective on its potential for combining high biomass with high value bioproducts. *Applied Phycology*, 1(1), 1–10. <https://doi.org/10.1080/26388081.2020.1715256>
- Mostafa, S. M. S. (2012). Microalgal biotechnology: Prospects and applications. Chapter in a book: *Plant Science*. London, UK: IntechOpen Ltd, 2012. <https://doi.org/10.5772/53694>
- Ahmad, M. T., Shariff, M., Yusoff, F. M., Goh, Y. M., Banerjee, S. (2018). Applications of microalga *Chlorella vulgaris* in aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, 1, 1–19. <https://doi.org/10.1111/raq.12320>
- Safi, C., Zebib, B., Merah, O., Pontalier, P.-Y., Vaca-Garcia, C. (2014). Morphology, composition, production, processing and applications of *Chlorella vulgaris*: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 35, 265–278. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.04.007>
- Tabarsa, M., Shin, I. S., Lee, J. H., Surayot, U., Park, W., You, S. (2015). An immune-enhancing water-soluble α glucan from *Chlorella vulgaris* and structural characteristics. *Food Science and Biotechnology*, 24(6), 1933–1941. <https://doi.org/10.1007/s10068-015-0255-0>
- Scott, A. M., Beller, E., Glasziou, P., Clark, J., Ranakusuma, R. W., Byambasuren, O. et al. (2018). Is antimicrobial administration to food animals a direct threat to human health? A rapid systematic review. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 52(3), 316–323. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2018.04.005>
- Sharma, C., Rokana, N., Chandra, M., Singh, B. P., Gulhane, R. D., Gill, J. P. S. et al. (2018). Antimicrobial resistance: Its surveillance, impact, and alternative management strategies in dairy animals. *Frontiers in Veterinary Science*, 4(JAN), Article 237. <https://doi.org/10.3389/fvets.2017.00237>
- Caprarulo, V., Hejna, M., Giromini, C., Liu, Y., Dell'Anno, M., Sotira, S. et al. (2020). Evaluation of dietary administration of chestnut and quebracho tannins on growth, serum metabolites and fecal parameters of weaned piglets. *Animals*, 10(11), Article 1945. <https://doi.org/10.3390/ani10111945>
- Ricky, R., Chiampo, F., Shanthakumar, S. (2022). Efficacy of ciprofloxacin and amoxicillin removal and the effect on the biochemical composition of *Chlorella vulgaris*. *Bioengineering*, 9(4), Article 134. <https://doi.org/10.3390/bioengineering9040134>
- Rathi Bhuvaneshwari, G., Shukla, S. P., Makesh, M., Thirumalaiselvan, S., Arun Sudhagar, S., Kothari, D. C. et al. (2013). Antibacterial activity of spirulina (*Arthrospira platensis* Geitler) against bacterial pathogens in aquaculture. *The Israeli Journal of Aquaculture — Bamidag*, 932(8), 1–8.
- Salido, J., Sánchez, C., Ruiz-Santaquiteria, J., Cristóbal, G., Blanco, S., Bueno, G. (2020). A low-cost automated digital microscopy platform for automatic identification of diatoms. *Applied Sciences*, 10, Article 6033. <https://doi.org/10.3390/app10176033>
- Mu, P., Plummer, D.T. (2001). Introduction to practical biochemistry. Chapter in a book: *Tata McGraw-Hill Education*: New York, NY, USA, 2001.
- Erbland, P., Caron, S., Peterson, M., Alyokhin, A. (2020). Design and performance of a low-cost, automated, large-scale photobioreactor for microalgae production. *Aquacultural Engineering*, 90, Article 102103. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2020.102103>
- Eilertsen, H. C., Eriksen, G. K., Bergum, J.-S., Strømholth, J., Elvevoll, E., Eilertsen, K.-E. et al. (2022). Mass cultivation of microalgae: I. Experiences with vertical column airlift photobioreactors, diatoms and CO₂ sequestration. *Applied Sciences*, 12, Article 3082. <https://doi.org/10.3390/app12063082>
- Барский, Е. Л., Лебедева, А. Ф., Саянина, Я.В. (1999). Изменения окислительно-восстановительного потенциала среды культивирования бактерий *Pseudomonas diminuta*, устойчивых к тяжелым металлам: связь с высвобождением металлотиюнеиноподобных белков из клеток. *Вестник Московского Университета. Серия 16: Биология*, 2, 11–15.
- Maeda, K., Owada, M., Kimura, N., Omata, K., Karube, I. (1995). CO₂ fixation from flue gas on coal fired thermal power plant by microalgae. *Energy Conversion and Management*, 36(6–9), 717–720. [https://doi.org/10.1016/0196-8904\(95\)00105-M](https://doi.org/10.1016/0196-8904(95)00105-M)
- Darias, J., Roviro, J., San Martín, A., Díaz, A.-R., Dorta, E., Cueto, M. (2001). Furoplacamioids A–C, novel polyhalogenated furanoid monoterpenes from *Plocamium cartilagineum*. *Journal of Natural Products*, 64(11), 1383–1387. <https://doi.org/10.1021/mp10297u>
- Barreto, M., Meyer, J. J. M. (2006). Isolation and antimicrobial activity of a lanosol derivative from *osmundaria* (rhodophyta) and a visual exploration of its biofilm covering. *South African Journal of Botany*, 72(4), 521–528. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2006.01.006>

44. Kavita, K., Singh, V. K., Jha, B. (2014). 24-Branched Δ^5 sterols from *laurencia papillosa* red seaweed with antibacterial activity against human pathogenic bacteria. *Microbiological Research*, 169(4), 301–306. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2013.07.002>
45. dos Santos Amorim, R.N., Rodrigues, J.A.G., Holanda, M.L., Quinderé, A. L. G., de Paula, R. C. M., Melo, V. M. M. et al. (2012). Antimicrobial effect of a crude sulfated polysaccharide from the red seaweed *gracilaria ornata*. *Brazilian*

- Archives of Biology and Technology*, 55(2), 171–181. <https://doi.org/10.1590/S1516-89132012000200001>
46. Abdel-Moneim, A.-M. E., El-Saadony, M. T., Shehata, A. M., Saad, A. M., Aldhumri, S. A., Ouda, S.M. et al. (2022). Antioxidant and antimicrobial activities of spirulina platensis extracts and biogenic selenium nanoparticles against selected pathogenic bacteria and fungi. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(2), 1197–1209. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.09.046>

REFERENCES

1. Rizwan, M., Mujtaba, G., Memon, S. A., Lee, K., Rashid, N. (2018). Exploring the potential of microalgae for new biotechnology applications and beyond: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 92, 394–404. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.04.034>
2. Villarruel-Lopez, A., Ascencio, F., Nuno, K. (2017). Microalgae, a potential natural functional food source — A review. *Polish Journal of Food and Nutrition Sciences*, 67(4), 251–263. <https://doi.org/10.1515/pjfn-2017-0017>
3. Sprague, M., Betancor, M. B., Tocher, D. R. (2017). Microbial and genetically engineered oils as replacements for fish oil in aquaculture feeds. *Biotechnology Letters*, 39(11), 1599–1609. <https://doi.org/10.1007/s10529-017-2402-6>
4. Ferreira, G. F., Rios Pinto, L. F., Maciel Filho, R., Fregolente, L. V. (2019). A review on lipid production from microalgae: Association between cultivation using waste streams and fatty acid profiles. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 109, 448–466. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2019.04.052>
5. Scharff, C., Domurath, N., Wensch-Dorendorf, M., Schröder, F.-G. (2017). Effect of different photoperiods on the biochemical profile of the green algae *C. vulgaris* and *S. obliquus*. *Acta Horticulturae*, 1170, 1149–1156. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2017.1170.148>
6. Borowitzka, M. A. (2013). High-value products from microalgae — their development and commercialization. *Journal of Applied Phycology*, 25(3), 743–756. <https://doi.org/10.1007/s10811-013-9983-9>
7. Suganya, T., Varman, M., Masjuki, H. H., Renganathan, S. (2016). Macroalgae and microalgae as a potential source for commercial applications along with biofuels production: A biorefinery approach. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 55, 909–941. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2015.11.026>
8. Santiago-Morales, I. S., Trujillo-Valle, L., Márquez-Rocha, F. J., Hernández, J.F.L. (2018). Tocopherols, phycocyanin and superoxide dismutase from microalgae: As potential food antioxidants. *Applied Food Biotechnology*, 5(1), 19–27. <https://doi.org/10.22037/afb.v5i1.17884>
9. Hu, J., Nagarajan, D., Zhang, Q., Chang, J.-S., Lee, D.-J. (2018). Heterotrophic cultivation of microalgae for pigment production: A review. *Biotechnology Advances*, 36(1), 54–67. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2017.09.009>
10. Mazumdar, N., Novis, P. M., Visnovsky, G., Gostomski, P. A. (2019). Effect of nutrients on the growth of a new alpine strain of *Haematococcus* (Chlorophyceae) from New Zealand. *Phycological Research*, 67(1), 21–27. <https://doi.org/10.1111/pre.12344>
11. Mantzorou, A., Ververidis, F. (2019). Microalgal biofilms: A further step over current microalgal cultivation techniques. *Science of the Total Environment*, 651, 3187–3201. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.09.355>
12. Nguyen, H. C., Su, C.-H., Yu, Y.-K., Huong, D. T.M. (2018). Sugarcane bagasse as a novel carbon source for heterotrophic cultivation of oleaginous microalga *Schizochytrium* sp. *Industrial Crops and Products*, 121, 99–105. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.05.005>
13. Lafarga, T. (2019). Cultured microalgae and compounds derived thereof for food applications: Strain selection and cultivation, drying, and processing strategies. *Food Reviews International*, 36(6), 559–583. <https://doi.org/10.1080/87559129.2019.1655572>
14. Li, Z., Li, Y., Zhang, X., Tan, T. (2015). Lipid extraction from non-broken and high water content microalgae *Chlorella* spp. by three-phase partitioning. *Algal Research*, 10, 218–223. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2015.04.021>
15. Zhao, G., Chen, X., Wang, L. Zhou, S., Feng, H., Chen, W. N. et al. (2013). Ultrasound assisted extraction of carbohydrates from microalgae as feedstock for yeast fermentation. *Bioresource Technology*, 128, 337–344. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.10.038>
16. Bleakley, S., Hayes, M. (2017). Algal proteins: extraction, application, and challenges concerning production. *Foods*, 6(5), Article 33, 1–34. <https://doi.org/10.3390/foods6050033>
17. Chen, J., Li, J., Dong, W., Zhang, X., Tyagi, R. D., Drogui, P. et al. (2018). The potential of microalgae in biodiesel production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 90, 336–346. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2018.03.073>
18. Su, Y., Song, K., Zhang, P. Su, Y., Cheng, J., Chen, X. (2017). Progress of microalgae biofuel's commercialization. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 74, 402–411. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2016.12.078>
19. Amorim, M. L., Soares, J., Coimbra, J. S. D. R., Leite, M. D. O., Albino, L. F. T., Martins, M. A. (2020). Microalgae proteins: Production, separation, isolation, quantification, and application in food and feed. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61(12), 1976–2002. <https://doi.org/10.1080/10408398.2020.1768046>
20. Phong, W. N., Show, P. L., Ling, T. C., Juan, J. C., Ng, E.-P., Chang, J.-S. (2018). Mild cell disruption methods for bio-functional proteins recovery from microalgae — Recent developments and future perspectives. *Algal Research*, 31, 506–516. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2017.04.005>
21. Zielinski, D., Fraczyk, J., Debowski, M., Zielinski, M., Kaminski, Z., Kręgiel, D. et al. (2020). Biological activity of hydrophilic extract of *Chlorella vulgaris* grown on post-fermentation leachate from a biogas plant supplied with stillage and maize silage. *Molecules*, 25(8), Article 25081790. <https://doi.org/10.3390/molecules25081790>
22. Frazzini, S., Scaglia, E., Dell'anno, M., Reggi, S., Panseri, S., Giromini, C. et al. (2022). Antioxidant and antimicrobial activity of algal and cyanobacterial extracts: An in vitro study. *Antioxidants*, 11, Article 992. <https://doi.org/10.3390/antiox11050992>
23. Selivanova, E. A., Ignatenko, M. E., Nemtseva, N. V. (2014). Antagonistic activity of novel green microalgae strains. *Zhurnal Mikrobiologii Epidemiologii Immunobiologii*, 4, 72–76. (In Russian)
24. Pina-Pérez, M. C., Rivas, A., Martínez, A., Rodrigo, D. (2017). Antimicrobial potential of macro and microalgae against pathogenic and spoilage microorganisms in food. *Food Chemistry*, 235, 34–44. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.05.033>
25. Singh, M., Singh, S., Prasad, S., Gambhir, I. (2008). Nanotechnology in medicine and antibacterial effect of silver nanoparticles. *Digest Journal of Nanomaterials and Biostructures*, 3(3), 115–122.
26. Ru, I. T. K., Sung, Y. Y., Jusoh, M., Wahid, M. E. A., Nagappan, T. (2020). *Chlorella vulgaris*: a perspective on its potential for combining high biomass with high value bioproducts. *Applied Phycology*, 1(1), 1–10. <https://doi.org/10.1080/26388081.2020.1715256>
27. Mostafa, S. M. S. (2012). Microalgal biotechnology: Prospects and applications. Chapter in a book: Plant Science. London, UK: IntechOpen Ltd, 2012. <https://doi.org/10.5772/53694>
28. Ahmad, M. T., Shariff, M., Yusoff, F. M., Goh, Y. M., Banerjee, S. (2018). Applications of microalga *Chlorella vulgaris* in aquaculture. *Reviews in Aquaculture*, 1, 1–19. <https://doi.org/10.1111/raq.12320>
29. Safi, C., Zebib, B., Merah, O., Pontalier, P.-Y., Vaca-Garcia, C. (2014). Morphology, composition, production, processing and applications of *Chlorella vulgaris*: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 35, 265–278. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2014.04.007>
30. Tabarsa, M., Shin, I. S., Lee, J. H., Surayot, U., Park, W., You, S. (2015). An immune-enhancing water-soluble α glucan from *Chlorella vulgaris* and structural characteristics. *Food Science and Biotechnology*, 24(6), 1933–1941. <https://doi.org/10.1007/s10068-015-0255-0>
31. Scott, A. M., Beller, E., Glaszio, P., Clark, J., Ranakusuma, R. W., Byambasuren, O. et al. (2018). Is antimicrobial administration to food animals a direct threat to human health? A rapid systematic review. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 52(3), 316–323. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2018.04.005>
32. Sharma, C., Rokana, N., Chandra, M., Singh, B. P., Gulhane, R. D., Gill, J. P. S. et al. (2018). Antimicrobial resistance: Its surveillance, impact, and alternative management strategies in dairy animals. *Frontiers in Veterinary Science*, 4(JAN), Article 237. <https://doi.org/10.3389/fvets.2017.00237>
33. Caprarulo, V., Hejna, M., Giromini, C., Liu, Y., Dell'Anno, M., Sotira, S. et al. (2020). Evaluation of dietary administration of chestnut and quebracho tannins on growth, serum metabolites and fecal parameters of weaned piglets. *Animals*, 10(11), Article 1945. <https://doi.org/10.3390/ani10111945>
34. Ricky, R., Chiampo, F., Shanthakumar, S. (2022). Efficacy of ciprofloxacin and amoxicillin removal and the effect on the biochemical composition of *Chlorella vulgaris*. *Bioengineering*, 9(4), Article 134. <https://doi.org/10.3390/bioengineering9040134>
35. Rathi Bhuvaneshwari, G., Shukla, S.P., Makesh, M., Thirumalaiselvan, S., Arun Sudhagar, S., Kothari, D. C. et al. (2013). Antibacterial activity of spirulina (*arthospira platensis*) against bacterial pathogens in aquaculture. *The Israeli Journal of Aquaculture — Bamidexh*, 932(8), 1–8.
36. Salido, J., Sánchez, C., Ruiz-Santaquiteria, J., Cristóbal, G., Blanco, S., Bueno, G. (2020). A low-cost automated digital microscopy platform for automatic identification of diatoms. *Applied Sciences*, 10, Article 6033. <https://doi.org/10.3390/app10176033>
37. Mu, P., Plummer, D.T. (2001). Introduction to practical biochemistry. Chapter in a book: Tata McGraw-Hill Education: New York, NY, USA, 2001.
38. Erbland, P., Caron, S., Peterson, M., Alyokhin, A. (2020). Design and performance of a low-cost, automated, large-scale photobioreactor for microalgae production. *Aquacultural Engineering*, 90, Article 102103. <https://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2020.102103>
39. Eilertsen, H. C., Eriksen, G. K., Bergum, J.-S., Strømsholt, J., Elvevoll, E., Eilertsen, K.-E. et al. (2022). Mass cultivation of microalgae: I. Experiences with vertical column airlift photobioreactors, diatoms and CO₂ sequestration. *Applied Sciences*, 12, Article 3082. <https://doi.org/10.3390/app12063082>

40. Barsky, E. L., Lebedeva, A. F., Savanina, Ya. V. (1999). Changes in the redox potential of the cultivation medium of the bacterium *Pseudomonas diminuta* resistant to heavy metals: relationship with the release of metallothionein-like proteins from cells. *Vestnik Moskovskogo Universiteta. Seriya 16. Biologiya*, 2, 11–15. (In Russian)
41. Maeda, K, Owada, M, Kimura, N, Omata, K, Karube, I. (1995). CO₂ fixation from flue gas on coal fired thermal power plant by microalgae. *Energy Conversion and Management*, 36(6–9), 717–720. [https://doi.org/10.1016/0196-8904\(95\)00105-M](https://doi.org/10.1016/0196-8904(95)00105-M)
42. Darias, J., Roviroso, J., San Martin, A., Díaz, A.-R., Dorta, E., Cueto, M. (2001). Furoprocamioids A–C, novel polyhalogenated furanoid monoterpenes from *Plocamium cartilagineum*. *Journal of Natural Products*, 64(11), 1383–1387. <https://doi.org/10.1021/np010297u>
43. Barreto, M., Meyer, J. J. M. (2006). Isolation and antimicrobial activity of a lanosol derivative from *osmundaria serrata* (rhodophyta) and a visual exploration of its biofilm covering. *South African Journal of Botany*, 72(4), 521–528. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2006.01.006>
44. Kavita, K., Singh, V. K., Jha, B. (2014). 24-Branched $\Delta 5$ sterols from *laurencia papillosa* red seaweed with antibacterial activity against human pathogenic bacteria. *Microbiological Research*, 169(4), 301–306. <https://doi.org/10.1016/j.micres.2013.07.002>
45. dos Santos Amorim, R. N., Rodrigues, J. A. G., Holanda, M. L., Quinderé, A. L. G., de Paula, R. C. M., Melo, V. M. M. et al. (2012). Antimicrobial effect of a crude sulfated polysaccharide from the red seaweed *gracilaria ornata*. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 55(2), 171–181. <https://doi.org/10.1590/S1516-89132012000200001>
46. Abdel-Moneim, A.-M. E., El-Saadony, M. T., Shehata, A. M., Saad, A. M., Aldhumri, S. A., Ouda, S. M. et al. (2022). Antioxidant and antimicrobial activities of spirulina platensis extracts and biogenic selenium nanoparticles against selected pathogenic bacteria and fungi. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 29(2), 1197–1209. <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2021.09.046>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
Долганюк Вячеслав Федорович — кандидат технических наук, научный сотрудник, Институт живых систем, Балтийский Федеральный университет им. И. Канта 236041, Калининград, ул. А. Невского, 14 Тел.: +7-961-707-24-53 E-mail: dolganuk_vf@mail.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0003-0603-7456	Vyacheslav F. Dolganyuk , Candidate of Technical Sciences, Researcher, Institute of Living Systems, Immanuel Kant Baltic Federal University 14, A. Nevsky str., 236041, Kaliningrad, Russia Tel.: +7-961-707-24-53 E-mail: dolganuk_vf@mail.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0003-0603-7456
Каширских Егор Владимирович — кандидат технических наук, научный сотрудник, Институт живых систем, Балтийский Федеральный университет им. И. Канта 236041, Калининград, ул. А. Невского, 14 Тел.: +7-923-504-23-23 E-mail: egorkah@mail.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0003-0442-5471	Egor V. Kashirskikh , Candidate of Technical Sciences, Researcher, Institute of Living Systems, Immanuel Kant Baltic Federal University 14, A. Nevsky str., 236041, Kaliningrad, Russia Tel.: +7-923-504-23-23 E-mail: egorkah@mail.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0003-0442-5471
Буденкова Екатерина Александровна — инженер, Институт живых систем, Балтийский Федеральный университет им. И. Канта 236041, Калининград, ул. А. Невского, 14 Тел.: +7-4012-595-595 E-mail: abudenkova@kantiana.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0003-4854-5459	Ekaterina A. Budenkova , Engineer, Institute of Living Systems, Immanuel Kant Baltic Federal University 14, A. Nevsky str., 236041, Kaliningrad, Russia Tel.: +7-4012-595-595 E-mail: abudenkova@kantiana.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0003-4854-5459
Андреева Анна Петровна — кандидат биологических наук, заведующий лабораторией, Балтийский Федеральный университет им. И. Канта 236041, г. Калининград, ул. А. Невского, 14 Тел.: +7-921-854-98-62 E-mail: andreewa.anyuta2010@yandex.kz ORCID: https://orcid.org/0000-0001-5521-6907	Anna P. Andreeva , Candidate of Biological Sciences, Head of Laboratory, Immanuel Kant Baltic Federal University 14, A. Nevsky str., 236041, Kaliningrad, Russia Tel.: +7-921-854-98-62 E-mail: andreewa.anyuta2010@yandex.kz ORCID: https://orcid.org/0000-0001-5521-6907
Сухих Станислав Алексеевич — доктор технических наук, доцент, заведующий лабораторией, Балтийский Федеральный университет им. И. Канта 236041, г. Калининград, ул. А. Невского, 14 Тел.: +7-960-903-62-81 E-mail: stas-asp@mail.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0001-7910-8388 * автор для контактов	Stanislav A. Sukhikh , Doctor of Technical Sciences., Docent, Head of Laboratory, Immanuel Kant Baltic Federal University 14, A. Nevsky str., 236041, Kaliningrad, Russia Tel.: +7-960-903-62-81 E-mail: stas-asp@mail.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0001-7910-8388 * corresponding author
Критерии авторства	Contribution
Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат.	Authors equally relevant to the writing of the manuscript, and equally responsible for plagiarism.
Конфликт интересов	Conflict of interest
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.	The authors declare no conflict of interest.