

**СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ БИОМАССЫ
ВОДОРΟΣЛИ *PORPHYRIDIVM PURPUREUM***

У.Д. Шкрєблик, 3 курс

Научный руководитель – Н.П. Дмитровиц, к. с.-х. н.

Полєсский государственный университет

Введение. На сегодняшний день производство биомассы водорослей занимает одно из центральных мест в современной биотехнологии. Сфера применения водорослей включает как использование самой их биомассы, так и использование биомассы как сырья для получения каких-либо ценных веществ [2]. Красные водоросли, в том числе и *Porphyridium purpureum* являются ценными объектами биотехнологии, имея в своем составе различные полезные биохимические вещества: белки, полисахариды, липиды, фикобилипротеины, экзополисахариды, длинноцепочечные полиненасыщенные жирные кислоты и фенольные соединения [5, 7, 8, 9, 10].

Культивирование *P. purpureum* в лабораторных условиях позволяет получать суспензию, которую применяют в медицине, косметологии, пищевой промышленности. С экономической точки зрения, применение водорослей в виде суспензии намного эффективнее, чем в виде пасты или сухой массы, так как процесс отделения биомассы от культуральной жидкости и дальнейшие процессы, связанные с практическим применением водорослей, требуют значительных дополнительных расходов [3].

Несмотря на то, что *P. purpureum* является ценным ресурсом, большинство исследований на сегодняшний день сосредоточены на культивировании видов зеленых водорослей. Одновременно с этим во многих работах, посвященных культивированию порфиридиума для различных целей, приводится малое количество данных по измерению биомассы, основанном на измерении оптической плотности суспензии, также не упоминается, при каких длинах волн следует измерять оптическую плотность для получения максимально высокого коэффициента детерминации.

На основании этого, целью исследований являлось выявление взаимосвязи оптической плотности суспензии порфиридиума при различных длинах волн и абсолютно сухой биомассы (АСБ) для последующего применения спектрофотометрического метода при ее определении.

Материалы и методы исследований. В качестве объекта исследований использовалась водоросль *Porphyridium purpureum* ((Bory de Saint-Vincent) Drew and Ross,) штамм IBCE P-12, из коллекции водорослей Института биофизики и клеточной инженерии НАНБ выращенная в накопительном режиме с использованием питательной среды SW [4]. Для построения калибровочного графика и уравнения регрессии было приготовлено 10 разведений суспензии различной концентрации (таблица 1).

Таблица 1. – Соотношение суспензии порфиридиума и дистиллированной воды

Номер про-бирки	Количество, мл		Номер про-бирки	Количество, мл	
	Суспензия пор-фиридиума	Дистиллиро-ванная вода		Суспензия пор-фиридиума	Дистиллиро-ванная вода
1	10	0	6	5	5
2	9	1	7	4	6
3	8	2	8	3	7
4	7	3	9	2	8
5	6	4	10	1	9

Сухую биомассу определяли стандартным весовым методом [6]. Оптическую плотность (ОП) измеряли на спектрофотометре ПЭ-6400ВИ. Спектрофотометрирование проводили в прямоугольной кювете с длиной оптического пути в 1 см при длинах волн 400–500 нм, 630–700 нм с шагом в 10 нм и 750 нм. Все измерения проводили в трехкратной повторности. Статистическая обработка данных и регрессионный анализ проводились с использованием ППП MS EXCEL [1].

Результаты. На основании анализа полученных данных построены графики линейного роста, определены коэффициенты корреляции и детерминации и значимость уравнения регрессии и его коэффициентов ($p=0,05$) при различных длинах волн, отражающие связь между АСБ и оптической плотностью суспензии водоросли *P. purpureum* (таблица 2).

Таблица 2. – Значения основных статистических параметров регрессии

Длина волны, нм	Коэффициент де-терминации, R^2	Значи-мость F	Длина волны, нм	Коэффициент де-терминации, R^2	Значи-мость F
400	0,9024	$2,5873 \times 10^{-5}$	500	0,9090	$1,9462 \times 10^{-5}$
410	0,8967	$3,2500 \times 10^{-5}$	630	0,9200	$1,1588 \times 10^{-5}$
420	0,9044	$2,3818 \times 10^{-5}$	640	0,9103	$1,8339 \times 10^{-5}$
430	0,9062	$2,1985 \times 10^{-5}$	650	0,9053	$2,2856 \times 10^{-5}$
440	0,8883	$3,0523 \times 10^{-5}$	660	0,9162	$1,3956 \times 10^{-5}$
450	0,8942	$3,5822 \times 10^{-5}$	670	0,9131	$1,6131 \times 10^{-5}$
460	0,8838	$5,2431 \times 10^{-5}$	680	0,9124	$1,6732 \times 10^{-5}$
470	0,8855	$4,9380 \times 10^{-5}$	690	0,8996	$2,8930 \times 10^{-5}$
480	0,9135	$1,5874 \times 10^{-5}$	700	0,9008	$2,7615 \times 10^{-5}$
490	0,9137	$1,5704 \times 10^{-5}$	750	0,9379	$4,1690 \times 10^{-6}$

Сравнительный анализ значений коэффициентов детерминации и значений показателя достоверности уравнения линейной регрессии позволил установить, что для дальнейшего вычисления уравнения регрессии необходимо использовать данные, полученные при измерении ОП суспензии при длине волны 750 нм, т.к. полученные коэффициенты корреляции и детерминации были весьма высокими – 0,97 и 0,94 соответственно. Уравнение регрессии, отражающее связь между АСБ и ОП при длине волны 750 нм суспензии порфиридиума значимо, так как уровень значимости F составил $4,17 \times 10^{-6}$, что меньше 0,05. Уравнение имело следующий вид (формула 1):

$$\text{АСБ} = 3,9256 \times \text{ОП}_{750} - 0,7230, (R^2=0,94, p<0,05) \quad (1)$$

где ОП_{750} – величина оптической плотности суспензии при 750 нм.

Оба коэффициента данного уравнения регрессии также были статистически значимы (при $p<0,05$): $a_0=0,0095$, $a_1=4,17 \times 10^{-6}$.

Заключение. Результаты проведенного исследования показали, что оптическую плотность следует измерять при длине волны 750 нм, а для количественного определения сухой биомассы (г/л) порфиридиума использовать уравнение: $\text{АСБ} = 3,9256 \times \text{ОП}_{750} - 0,7230$.

Таким образом, для определения абсолютно сухой биомассы при культивировании *P. purpureum* возможно применение спектрофотометрического метода, что позволит снизить трудоемкость процесса выращивания и контроля основных показателей.

Список использованных источников

1. Биометрия в MS Excel : учебное пособие / Е. Я. Лебедько [и др.]. – СПб. : Лань, 2020. – 172 с.
2. Горбунова, С. Ю. Об эффективности использования микроводорослей в промышленной биотехнологии с целью мелиорации водной среды и получения кормов для различных отраслей сельского хозяйства / С. Ю. Горбунова, Я. Д. Жондарева // Современные рыбохозяйственные и экологические проблемы Азово-Черноморского региона : материалы VII Междунар. конф., Керчь, 20–23 июня 2012 г. : [в 2 т.] / Гос. агентство рыб. хоз-ва Украины [и др. ; гл. ред. О. А. Петренко]. – Керчь, 2012. – Т. 2. – С. 114–119.
3. Дмитриевич, Н. П. Спектрофотометрический контроль численности клеток водоросли *Chlorella Vulgaris* (Beijerinck) / Н. П. Дмитриевич // Современные задачи и перспективные направления инновационного развития науки: сб. ст. / редкол.: А. А. Сукиасян (гл.) [и др.]. – Уфа: OMEGA SCIENCE, 2022. – С. 19–22.
4. Методы физиолого-биохимического исследования водорослей в гидробиологической практике / [Л. А. Сиренко [и др.]; Акад. Наук УССР, Ин-т гидробиологии. – Киев : Наук. Думка, 1975. – 247 с.
5. Саут, Р. Основы альгологии / Р. Саут, А. Уиттик. – М. : Мир, 1990. – 597 с.
6. Сохранение и воспроизведение хозяйственно полезных видов водорослей в альгологической коллекции: метод. указ. / Нац. акад. наук Беларуси, Ин-т биофизики и клеточ. инженерии; [сост.: С. С. Мельников и др.]. – Минск: Право и экономика, 2010. – 40 с.
7. Способ получения фикоэритрина из красной микроводоросли: пат. 93767 РФ, МПК C12N 1/12, / И. Н. Гудвилевич, А. Б. Боровков, Р. П. Тренкеншу; заявитель Институт биологии южных морей им. А. О. Ковалевского; заявл. 29.10.14; опубли. 10.04.15 // Офиц. Бюллетень. / Институт биологии южных морей им. А. О. Ковалевского, 2015. – № 10. – С. 7.
8. Стадничук, И. Н. Фикобилипротеины / И. Н. Стадничук. – М. : ВИНТИ, Сер. Биолог. Хим., 1990. – Т. 40. – 196 с.
9. Усов, А. И. Исследование полисахаридов красных морских водорослей / А. И. Усов // Труды ВНИРО, 1997. – Т. 124. – С. 65–70.
10. Titlyanov, E. A. Useful substances of marine red alge (*Rhodophyta*): chemical structure and content / E. A. Titlyanov // Izv. TINRO, 2011. – Vol. 165. – P. 305–319.