

УДК 57.087.1: 58.087

Н.П. ДМИТРОВИЧ, канд. сх. наук, доцент,
доцент кафедры биотехнологии¹

Т.В. КОЗЛОВА, доктор сх. наук, доцент,
профессор кафедры биотехнологии¹

У.Д. ШКРЕБЛИК
студент¹

¹Полесский государственный университет,
г. Пинск, Республика Беларусь

Статья поступила 1.04.2025

СПЕКТРОФОТОМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД ДЛЯ ПОДСЧЕТА ЧИСЛЕННОСТИ КЛЕТОК И ОПРЕДЕЛЕНИЯ СУХОЙ БИОМАССЫ ВОДОРОСЛИ *PORPHYRIDIUM PURPUREUM*

*В современном мире водоросли довольно широко применяются в различных сферах благодаря их уникальному биохимическому составу и способности к быстрому росту в контролируемых условиях. Красные водоросли, в том числе *Porphyridium purpureum*, также являются одним из объектов альгобиотехнологии. Однако при его культивировании зачастую используют классические трудоемкие методы для контроля параметров роста.*

*В данном исследовании проведена оценка возможности применения спектрофотометрического метода как альтернативы классическим методам контроля роста клеток в суспензии в процессе культивирования. Построены графики линейного роста, определены коэффициенты корреляции и детерминации, значимость уравнений регрессии и его коэффициентов при различных длинах волн, отражающие связь между такими параметрами, как количество и абсолютно сухая биомасса клеток и оптической плотностью суспензии *Porphyridium purpureum*. Выяснено, что для определения количества клеток оптическую плотность суспензии следует измерять при длине волны 630 нм и использовать уравнение: Количество клеток (млн. кл/мл) = $13,0821 \times ОП_{630} - 1,3845$. Для определения абсолютно сухой биомассы оптическую плотность суспензии порфиридиума следует измерять при длине волны 750 нм, а для расчета использовать уравнение: АСБ (г/л) = $3,9256 \times ОП_{750} - 0,7230$.*

Ключевые слова: альгология, культивирование, *Porphyridium purpureum*, спектрофотометрический метод.

DMITROVICH N.P., PhD in Agric. Sc., Associate Professor
Associate Professor of the Department of Biotechnology¹

KOZLOVA T.V., Doctor of Agric. Sc., Associate Professor
Professor of the Department of Biotechnology¹

SHKREBLIK U.D., Student¹

¹Polessky State University, Pinsk, Republic of Belarus

SPECTROPHOTOMETRIC METHOD FOR COUNTING THE NUMBER OF CELLS AND DETERMINING DRY BIOMASS OF THE ALGAE *PORPHYRIDIUM PURPUREUM*

*In the modern world, algae are widely used in various fields due to their unique biochemical composition and ability to grow quickly under controlled conditions. Red algae, including *Porphyridium purpureum*,*

are also one of the objects of alga biotechnology. However, when cultivating it, classical labor-intensive methods are often used to control growth parameters.

This study assesses the possibility of using the spectrophotometric method as an alternative to classical methods for monitoring cell growth in suspension during cultivation. Linear growth graphs were plotted, correlation and determination coefficients, the significance of regression equations and its coefficients at different wavelengths were determined, reflecting the relationship between such parameters as the number of cells and absolutely dry biomass and the optical density of the *Porphyridium* suspension. It was found that to determine the number of cells, the optical density of the suspension should be measured at a wavelength of 630 nm and use the equation: Number of cells (million cells/ml) = $13.0821 \times OD_{630} - 1.3845$. To determine the absolutely dry biomass, the optical density of the *Porphyridium* suspension should be measured at a wavelength of 750 nm, and for the calculation use the equation: ADB (g/l) = $3.9256 \times OD_{750} - 0.7230$.

Keywords: phycology, cultivation, *Porphyridium purpureum*, spectrophotometric method.

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 [3, 16, 19]. 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 [9, 11, 12, 13, 14, 20].

Культивирование *P. purpureum* в лабораторных условиях позволяет получать суспензию, которую применяют в медицине, косметологии, пищевой промышленности [16, 17, 18, 19]. 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 [4].

Несмотря на то, что *P. purpureum* является ценным ресурсом, большинство исследований на сегодняшний день сосредоточены на культивировании видов зеленых водорослей [19]. При этом многие исследователи отмечают актуальность выявления и применения экспресс методов определения содержания разнообразных метаболитов в клетках водорослей [5, 15], особенно без необходимости

разрушения клеток [14]. Непосредственно для порфиридиума составлена общая модель спектра поглощения культуры, которую можно использовать для определения количественного содержания фотосинтетических пигментов *in vivo* [5, 14, 15]. Одновременно с этим во многих работах, посвященных культивированию порфиридиума для различных целей, приводится достаточно мало информации по определению биомассы [6] и численности клеток, основанном на измерении оптической плотности суспензии, также довольно редко 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 таких показателей роста как численность клеток и абсолютно сухая биомасса (АСБ) для последующего применения спектрофотометрического метода их определения.

Материалы и методы. В качестве объекта исследований использовалась водоросль *Porphyridium purpureum* ((Boyu 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 [8]. Для построения калибровочных графиков и уравнений регрессии было приготовлено 10 разведений суспензии различной концентрации (таблица 1).

Таблица 1. – Соотношение суспензии порфиридиума и дистиллированной воды

Номер пробирки	Количество, мл		Номер пробирки	Количество, мл	
	Суспензия порфиридиума	Дистиллированная вода		Суспензия порфиридиума	Дистиллированная 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 [10]. Подсчет клеток проводили визуально с помощью камеры Горяева [2]. Оптическую плотность (ОП) измеряли на спектрофотометре ПЭ-6400ВИ (Экрос, Россия). Спектрофотометрирование проводили в прямоугольной кювете с длиной оптического пути 10 мм при длинах волн 400–500 нм (1-я группа), 630–700 нм (2-я группа) с шагом в 10 нм и 750 нм. Группы сформированы на основании спектров поглощения основных фотосинтетических пигментов порфиридиума, определяющих окраску клеток водоросли во время культивирования. Длина волны 750 нм применялась для определения оптической плотности, так как измерения на

данной длине волны используют для работы с разными представителями одноклеточных водорослей [7]. Все измерения проводили в трехкратной повторности. Статистическая обработка данных и регрессионный анализ проводились с использованием MS EXCEL [1].

Результаты и их обсуждение. 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 количеством клеток и оптической плотностью суспензии водоросли *P. purpureum* (таблица 2).

Таблица 2. – Значения основных статистических параметров регрессии для выявления взаимосвязи оптической плотности суспензии и количества клеток

Длина волны, нм	Множественный коэффициент корреляции, R	Коэффициент детерминации, R ²	Значимость F
400	0,9877	0,9755	$9,9509 \times 10^{-8}$
410	0,9879	0,9760	$9,1661 \times 10^{-8}$
420	0,9905	0,9810	$3,5639 \times 10^{-8}$
430	0,9879	0,9759	$9,3663 \times 10^{-8}$
440	0,9879	0,9759	$9,3593 \times 10^{-8}$
450	0,9858	0,9717	$1,7663 \times 10^{-7}$
460	0,9837	0,9677	$3,0353 \times 10^{-7}$
470	0,9794	0,9593	$7,6344 \times 10^{-7}$
480	0,9843	0,9688	$2,6183 \times 10^{-7}$
490	0,9904	0,9809	$3,6729 \times 10^{-8}$
500	0,9899	0,9799	$4,4715 \times 10^{-8}$
630	0,9911	0,9823	$2,6890 \times 10^{-8}$
640	0,9888	0,9778	$6,7530 \times 10^{-8}$
650	0,9868	0,9738	$1,3207 \times 10^{-7}$
660	0,9903	0,9807	$3,8800 \times 10^{-8}$
670	0,9899	0,9798	$4,5677 \times 10^{-8}$
680	0,9882	0,9765	$8,4078 \times 10^{-8}$
690	0,9879	0,9759	$9,2567 \times 10^{-8}$
700	0,9870	0,9745	$1,2322 \times 10^{-7}$
750	0,9802	0,9608	$6,5404 \times 10^{-7}$

Для каждой из исследованных групп длин волн были отобраны максимальные значения коэффициента детерминации и показателя достоверности для последующего корректного вычисления уравнении регрессии. В группе 1 таковыми являлись показатели при измерении оптической плотности суспензии на длине волны 420 нм, а в группе 2 – на 630 нм. Коэффициент детерминации при данных длинах волн имел значение 0,98.

Уравнения регрессии в полной мере способны отражать связь между численностью клеток, подсчитанной с помощью счетной камеры, и оптической плотностью суспензии при определенных длинах волн. На основании анализа полученных показателей значимости F был сделан вывод, что для всех длин волн полученные уравнения линейной регрессии являлись достоверными. В построенных уравнениях вида $y=ax+b$, y представлял собой численность клеток, a и b – коэффициенты уравнения, x – оптическая плотность, измеренная при различных длинах волн (таблица 3).

Вышеупомянутые коэффициенты явились основанием для получения уравнений регрессии, отражающих связь между численностью клеток и оптической плотностью (ОП) суспензии порфиридиума. Учитывая значения коэффициентов детерминации и уровней значимости, как самого уравнения, так и его коэффициентов, наиболее достоверные результаты могут быть получены при использовании следующего уравнения (формула 1):

$$\text{Количество клеток (млн. кл/мл)} = 13,0821 \quad (1) \\ \times \text{ОП}_{630} - 1,3845; (R^2=0,98, p<0,05)$$

Таблица 3. – Коэффициенты уравнения регрессии $y=ax+b$ для определения количества клеток порфиридиума

Длина волны, нм	Коэффициент a	Коэффициент b	Длина волны, нм	Коэффициент a	Коэффициент b
400	12,0060	-1,3795	500	11,4998	-1,2380
410	12,4379	-1,6350	630	13,0821	-1,3845
420	12,1881	-1,5045	640	12,7070	-1,2836
430	12,6029	-1,7635	650	12,7645	-1,4481
440	12,5889	-1,7764	660	12,3128	-1,2137
450	12,7548	-1,7670	670	11,8395	-1,2382
460	13,1446	-1,9369	680	11,4074	-1,2229
470	13,2275	-1,9758	690	12,0184	-1,5469
480	12,1567	-1,5263	700	12,8871	-1,7536
490	11,7232	-1,2844	750	15,9688	-3,2202

где ОП_{630} – величина оптической плотности суспензии при 630 нм.

Измерение оптической плотности при 630 нм позволит наиболее достоверно оценить количество клеток в суспензии порфиридиума спектрофотометрическим методом

Абсолютно сухая биомасса (АСБ) также является важным критерием при оценке роста и развития клеток в суспензии при ее культивировании. Однако определение данного показателя стандартными методами достаточно трудоемко. В связи с этим проведено исследование, направленное на установление возможности применения спектрофотометрического метода определения АСБ порфиридиума при культивировании.

Аналогично численности клеток были построены графики линейного роста, определены коэффициенты корреляции и детерминации и значимость уравнения регрессии и его коэффициентов ($p=0,05$) при различных длинах волн для выявления взаимосвязи между абсолютно сухой биомассой и оптической плотностью суспензии (таблица 4).

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.

Таблица 4. – Значения основных статистических параметров регрессии для выявления взаимосвязи оптической плотности суспензии и биомассы клеток

Длина волны, нм	Множественный коэффициент корреляции, R	Коэффициент детерминации, R ²	Значимость F
400	0,9499	0,9024	2,5873×10 ⁻⁵
410	0,9469	0,8967	3,2500×10 ⁻⁵
420	0,9510	0,9044	2,3818×10 ⁻⁵
430	0,9520	0,9062	2,1985×10 ⁻⁵
440	0,9478	0,8883	3,0523×10 ⁻⁵
450	0,9456	0,8942	3,5822×10 ⁻⁵
460	0,9401	0,8838	5,2431×10 ⁻⁵
470	0,9410	0,8855	4,9380×10 ⁻⁵
480	0,9558	0,9135	1,5874×10 ⁻⁵
490	0,9559	0,9137	1,5704×10 ⁻⁵
500	0,9534	0,9090	1,9462×10 ⁻⁵
630	0,9592	0,9200	1,1588×10 ⁻⁵
640	0,9541	0,9103	1,8339×10 ⁻⁵
650	0,9515	0,9053	2,2856×10 ⁻⁵
660	0,9572	0,9162	1,3956×10 ⁻⁵
670	0,9556	0,9131	1,6131×10 ⁻⁵
680	0,9552	0,9124	1,6732×10 ⁻⁵
690	0,9485	0,8996	2,8930×10 ⁻⁵
700	0,9491	0,9008	2,7615×10 ⁻⁵
750	0,9685	0,9379	4,1690×10⁻⁶

В линейных уравнениях регрессии вида $y=ax+b$, y представлял собой количество сухой биомассы, a и b – коэффициенты уравнений, x – оптическая плотность, измеренная на разных длинах волн (таблица 5).

Уравнение регрессии, отражающее связь между АСБ и ОП при длине волны 750 нм суспензии порфиридиума значимо (уровень значимости F составил $4,17 \times 10^{-6}$) и имело следующий вид (формула 2):

$$\text{АСБ (г/л)} = 3,9256 \times \text{ОП}_{750} - 0,7230, \quad (2)$$

$(R^2=0,94, p<0,05)$

где ОП₇₅₀ – величина оптической плотности суспензии при 750 нм.

Измерение оптической плотности суспензии клеток порфиридиума при длине волны 750 нм и позволит получить наиболее достоверные значения сухой биомассы менее трудоемким спектрофотометрическим методом.

Таблица 5. – Коэффициенты уравнения регрессии $y=ax+b$ для определения биомассы порфиридиума

Длина волны, нм	Коэффициент a	Коэффициент b	Длина волны, нм	Коэффициент a	Коэффициент b
400	2,8731	-0,2228	500	2,7558	-0,1913
410	2,9664	-0,2778	630	3,1500	-0,2348
420	2,9116	-0,2496	640	3,0508	-0,2055
430	3,0218	-0,3183	650	3,0624	-0,2437
440	3,0052	-0,3132	660	2,9613	-0,1917
450	3,0443	-0,3107	670	2,8438	-0,1954
460	3,1256	-0,3442	680	2,7435	-0,1939
470	3,1620	-0,3634	690	2,8711	-0,25972
480	2,9371	-0,2751	700	3,0834	-0,3119
490	2,8153	-0,2061	750	3,9256	-0,7230

Заклучение. Результаты проведенного исследования показали возможность применения спектрофотометрического метода для контроля параметров роста клеток в суспензии порфиридиума при его культивировании в накопительной культуре.

При применении спектрофотометра для определения количества клеток в суспензии оптическую плотность следует измерять при длине волны 630 нм и использовать уравнение: Количество клеток (млн. кл/мл) = $13,0821 \times \text{ОП}_{630} - 1,3845$. Для определения абсолютно сухой биомассы следует измерять оптическую плотность суспензии при длине волны 750 нм с дальнейшим применением уравнения: АСБ (г/л) = $3,9256 \times \text{ОП}_{750} - 0,7230$.

Таким образом, спектрофотометрический метод может быть использован как альтернатива более трудоемким классическим методам контроля роста суспензионной накопительной культуры порфиридиума.

Список литературы

1. Биометрия в MS Excel : учебное пособие / Е. Я. Лебедевко [и др.]. – СПб. : Лань, 2020. – 172 с.
2. Владимирова, М. Г. Интенсивная культура одноклеточных водорослей : (инструкция по первичным испытаниям, выделяемых из природы и селекционируемых форм фотоавтотрофных одноклеточных водорослей) / М. Г. Владимирова, В. Е. Семенов ; Акад. наук СССР, Ин-т физиологии растений им. К. А. Тимирязева. – М. : АН СССР, 1962. – 59 с.
3. 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.
4. 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.
5. Лелеков, А. С. Двухкомпонентная модель роста микроводорослей в плотностате / А. С. Лелеков, Р. П. Тренкеншу // Математическая биология и биоинформатика, 2021. – № 16:1. – С. 101–114.
6. Лелеков, А. С. Моделирование динамики макромолекулярного состава микроводорослей в накопительной культуре / А. С. Лелеков, Р. П. Тренкеншу // Компьютерные исследования и моделирование, 2023. – № 15:3. – С. 739–756.
7. Маркина, Ж. В. Применение спектрофотометрического метода для определения численности клеток микроводорослей рода *Tetraselmis* (Chlorophyta): калибровочные кривые и уравнения для подсчета / Ж. В. Маркина, С. И. Масленников, Л. А. Бозун // Биология моря, 2022. – Т. 48, № 6. – С. 426–429.
8. 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.
9. Саут, Р. Основы альгологии / Р. Саут, А. Уиттик. – М. : Мир, 1990. – 597 с.
10. 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.
11. Способ получения фикоэритрина из красной микроводоросли: пат. 93767 РФ, МПК С12N 1/12, / И. Н. Гудвилевич, А. Б. Боровков, Р. П. Тренкеншу; заявитель Институт биологии южных морей им. А. О. Ковалевского; заявл. 29.10.14; опубл. 10.04.15 // Офиц. бюллетень. / Институт биологии южных морей им. А. О. Ковалевского, 2015. – № 10. – С. 7.
12. Стадничук, И. Н. Фикобилипротеины / И. Н. Стадничук. – М. : ВИНТИ, Сер. Биол. хим., 1990. – Т. 40. – 196 с.
13. Усов, А. И. Исследование полисахаридов красных морских водорослей / А. И. Усов

- // Труды ВНИРО, 1997. – Т. 124. – С. 65–70.
14. Чернышев, Д. Н. Модель декомпозиции нативного спектра поглощения культуры *Porphyridium purpureum* / Д. Н. Чернышев, В. С. Клочкова, А. С. Лелеков // Вестник СамУ, Естественнонаучная серия, 2024. – № 30:1. –С. 122–131.
 15. Чернышев, Д. Н. Разделение спектра поглощения культуры *Porphyridium purpureum* (Вогу) Росс. в красной области / Д. Н. Чернышев, В. С. Клочкова, А. С. Лелеков // Вопросы современной альгологии, 2022. –№ 1 (28). –С. 25–34.
 16. Advances in the production of bioactive substances from marine unicellular microalgae *Porphyridium spp.* / Sh. Li [and etc.] // Bioresource Technology, 2019. –Vol. 292. –P. 1220–1248.
 17. Effect of specific irradiance on productivity and pigment and protein production of *Porphyridium purpureum* (Rhodophyta) semi-continuous culture / A.B. Borovkov [and etc.] // Bioresource Technology, 2023. –Vol. 374. – Art. no. 128771 (11 p.).
 18. Natural marine products as antiprotozoal agents against amitochondrial parasites / E. A. Estrella-Parra [and etc.] // International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance, 2022. –Vol. 19. –P. 40–46.
 19. New horizons in culture and valorization of red microalgae / C. Gagnard [and etc.] // Biotechnology Advances, 2019. –Vol. 37, Iss. 1. –P. 193–222.
 20. 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.
- ### References
1. Lebed'ko E.Ya., Hohlov A.M., Baranovskij D.I., Getmanec O.M. *Biometriya v MS Excel : uchebnoe posobie* [Biometrics in MS Excel: a tutorial]. SPb., Lan', 2020. 172 p. (In Russian)
 2. Vladimirova M.G., Semenenko V.E. *Intensivnaya kul'tura odnokletochnyh vodoroslej : (instrukciya po pervichnym ispytaniyam, vydelyaemyh iz prirody i selekcioniruemym form fotoavtotrofnym odnokletochnym vodoroslej)* [Intensive culture of unicellular algae: (instructions for primary testing of isolated from nature and selected forms of photoautotrophic unicellular algae)]. Moscow, AN SSSR, 1962. 59 p. (In Russian)
 3. Gorbunova S.Yu., Zhondareva Ya.D. Ob effektivnosti ispol'zovaniya mikrovodoroslej v promyshlennoj biotekhnologii s cel'yu melioracii vodnoj sredy i polucheniya kormov dlya razlichnyh otraslej sel'skogo hozyajstva [On the efficiency of using microalgae in industrial biotechnology for the purpose of melioration of the aquatic environment and obtaining feed for various branches of agriculture]. *Sovremennye rybohozyajstvennyye i ekologicheskie problemy Azovo-Chernomorskogo regiona : materialy VII Mezhdunar. konf.* [Modern fisheries and environmental problems of the Azov-Black Sea region: materials of the VII Int. Conf.]. Kerch', 2012, vol. 2, pp. 114–119. (In Russian)
 4. Dmitrovich N.P. Spektrofotometricheskij kontrol' chislennosti kletok vodorosli *Chlorella Vulgaris* (Beijerink) [Spectrophotometric control of the cell number of the alga *Chlorella Vulgaris* (Beijerink)]. *Sovremennye zadachi i perspektivnye napravleniya innovacionnogo razvitiya nauki: sb. st.* [Modern tasks and promising directions of innovative development of science: collection of articles]. Ufa, 2022, pp. 19–22. (In Russian)
 5. Lelekov A.S., Trenkenshu R.P. Dvuhkomponentnaya model' rosta mikrovodoroslej v plotnostate [Two-component model of microalgae growth in a density stat]. *Matematicheskaya biologiya i bioinformatika* [Mathematical biology and bioinformatics], 2021, vol. 16:1, pp. 101–114. (In Russian)
 6. Lelekov A.S., Trenkenshu R.P. Modelirovanie dinamiki makromolekulyarnogo sostava mikrovodoroslej v nakopitel'noj kul'ture [Modeling the dynamics of the macromolecular composition of microalgae in an enrichment culture]. *Komp'yuternye issledovaniya i modelirovanie* [Computer research and modeling], 2023, vol. 15:3, pp. 739–756. (In Russian)
 7. Markina Zh.V., Maslennikov S.I., Bocun L.A. Primenenie spektrofotometricheskogo metoda dlya opredeleniya chislennosti kletok mikrovodoroslej roda *Tetraselmis* (Chlorophyta): kalibrovochnye krivyye i uravneniya dlya podscheta [Application of the spectrophotometric method for determining the number of cells of microalgae of the genus

- Tetraselmis (Chlorophyta): calibration curves and equations for counting]. *Biologiya morya* [Russian Journal of Marine Biology]. Vladivostok, 2022, vol. 48, no. 6, pp. 426–429. (In Russian)
8. Sirenko L.A., Sakevich A.I., Osipov L.F. *Metody fiziologo-biohimicheskogo issledovaniya vodoroslej v gidrobiologicheskoy praktike* [Methods of physiological and biochemical study of algae in hydrobiological practice]. Kiev, Nauk. dumka, 1975. 247 p. (In Russian)
 9. Saut R., Uittik A. *Osnovy al'gologii* [Basics of algology]. Moscow, Mir, 1990. 597 p. (In Russian)
 10. Mel'nikov S.S., Manankina E.V., Shalygo N.V. *Sohranenie i vosproizvedenie hozyajstvenno poleznyh vidov vodoroslej v al'gologicheskoy kollekcii: metod. ukaz.* [Conservation and reproduction of economically useful algae species in an algological collection: method. guide]. Minsk, Pravo i ekonomika, 2010. 40 p. (In Russian)
 11. Gudvilovich I.N., Borovkov A.B., Trenkenshu R.P. *Sposob polucheniya fikoeritrina iz krasnoj mikrovodorosli* [Method for obtaining phycoerythrin from red microalgae]. Patent RF no. 93767, MPK C12N 1/12, 2015. (In Russian)
 12. Stadnichuk I.N. *Fikobiliproteiny* [Phycobilliproteins]. Moscow, VINITI, Ser. Biolog. him., 1990, vol. 40, 196 p. (In Russian)
 13. Usov A. I. *Issledovanie polisaharidov krasnyh morskikh vodoroslej* [Study of polysaccharides of red marine algae]. *Trudy VNIRO* [Proceedings of VNIRO]. Moscow, 1997, vol. 124, pp. 65–70. (In Russian)
 14. Chernyshev D.N., Klochkova V.S., Lelekov A.S. *Model' dekompozicii nativnogo spektra pogloshcheniya kul'tury Porphyridium purpureum* [Model of decomposition of the native absorption spectrum of the Porphyridium purpureum culture]. *Vestnik SamU, Estestvennonauchnaya seriya* [Bulletin of SamU, Natural Science Series], 2024, vol. 30:1, pp. 122–131. (In Russian)
 15. Chernyshev D.N., Klochkova V.S., Lelekov A.S. *Razdelenie spektra pogloshcheniya kul'tury Porphyridium purpureum (Bory) Ross. v krasnoj oblasti* [Separation of the absorption spectrum of *Porphyridium purpureum* (Bory) Ross. in the red area]. *Voprosy sovremennoj al'gologii* [Issues of modern algology]. Moscow, 2022, vol. 1 (28), pp. 25–34. (In Russian)
 16. Sh. Li, L. Ji, Q. Shi, H. Wu, J. Fan *Advances in the production of bioactive substances from marine unicellular microalgae Porphyridium spp.* *Bioresource Technology*, 2019, vol. 292, pp. 1220–1248.
 17. Borovkov A.B., Gudvilovich I.N., Lelekov A.S., Avsiyan A.L. *Effect of specific irradiance on productivity and pigment and protein production of Porphyridium purpureum (Rhodophyta) semi-continuous culture.* *Bioresource Technology*, 2023, vol. 374, Art. no. 128771 (11 p.).
 18. E. A. Estrella-Parra, R. Arreola, M. E. Alvarez-Sanchez, J. C. Torres-Romero, O. Rojas-Espinosa, J. A. De la Cruz-Santiago, M. B. Martinez-Benitez, C. Lopez-Camarillo, J. C. Lara-Riegos, V. E. Arana-Argonez, M. A. Ramirez-Camacho *Natural marine products as antiprotozoal agents against amitochondrial parasites.* *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance*, 2022, vol. 19, pp. 40–46.
 19. C. Gagnard, N. Gargouch, P. Dubessay, C. Delattre, G. Pierre, C. Laroche, I. Fendri, S. Abdelkafi, Ph. Michaud *New horizons in culture and valorization of red microalgae.* *Biotechnology Advances*, 2019, vol. 37, Iss. 1, pp. 193–222.
 20. Titlyanov E.A. *Useful substances of marine red alge (Rhodophyta): chemical structure and content.* *Izv. TINRO.* Moscow, 2011, vol. 165, pp. 305–319.

Received 1.04.2025