

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
«ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ
ЛЕКАРСТВЕННЫХ И АРОМАТИЧЕСКИХ РАСТЕНИЙ»

ОТ РАСТЕНИЯ ДО ЛЕКАРСТВЕННОГО ПРЕПАРАТА

МАТЕРИАЛЫ МЕЖДУНАРОДНОЙ НАУЧНОЙ КОНФЕРЕНЦИИ,
г. Москва, 4-5 ИЮНЯ 2020 г.

ISBN 978-5-87019-088-4
 УДК: 633.82: 615.2: 615.4: 615.07
 ББК: 42: 52.8: 24.2: 24.4

РЕДАКЦИОННЫЙ СОВЕТ

Сидельников Николай Иванович – директор ФГБНУ ВИЛАР, академик РАН, профессор.

Мизина Прасковья Георгиевна – заместитель директора ФГБНУ ВИЛАР по научной работе, доктор фармацевтических наук, профессор.

Морозов Александр Иванович – заместитель директора ФГБНУ ВИЛАР, доктор сельскохозяйственных наук.

Семкина Ольга Александровна – Учёный секретарь, заведующий научно – организационным отделом, кандидат фармацевтических наук.

Сайбель Ольга Леонидовна – руководитель Центра химии и фармацевтической технологии, кандидат фармацевтических наук.

Лупанова Ирина Александровна – руководитель Центра медицины, кандидат биологических наук.

Балеев Дмитрий Николаевич – заведующий лабораторией атомарно – молекулярной биорегуляции и селекции, кандидат сельскохозяйственных наук.

Масляков Валерий Юрьевич – заведующий отделом растительных ресурсов, кандидат географических наук.

Хазиева Фирдаус Мухаметовна – заведующий отделом агробиотехнологии, кандидат биологических наук.

Цицилин Андрей Николаевич – заведующий лабораторией Ботанический сад, кандидат биологических наук.

Савин Павел Сергеевич – руководитель группы биотехнологии, кандидат биологических наук.

Крепкова Любовь Вениаминовна – заведующий отделом токсикологии, кандидат биологических наук.

Ферубко Екатерина Владимировна – заведующий отделом экспериментальной и клинической фармакологии, кандидат медицинских наук.

Фатеева Татьяна Владимировна – заведующий лабораторией микробиологических исследований.

Ответственные секретари

Борисенко Елена Валерьевна – ведущий научный сотрудник научно-организационного отдела, кандидат ветеринарных наук.

Гуленков Александр Сергеевич – научный сотрудник отдела фитохимии и стандартизации.

Международная научная конференция «От растения до лекарственного препарата»

Сборник научных трудов, М., ФГБНУ ВИЛАР, 2020 г.

Материалы публикуются в авторской редакции

ISBN 978-5-87019-088-4



9 785870 190884



Запись конференции

© Коллектив авторов, 2020

РАЗДЕЛ 5. БИОТЕХНОЛОГИЯ В ЛЕКАРСТВЕННОМ РАСТЕНИЕВОДСТВЕ	157
БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ПОДХОДЫ В РЕГУЛЯЦИИ БИОСИНТЕЗА ПОЛИФЕНОЛОВ В <i>IN VITRO</i> КУЛЬТУРАХ РАСТЕНИЙ	
Загоскина Н. В., Нечаева Т. Л., Гончарук Е. А.	158
МИКРОСКОПИЧЕСКИЙ АНАЛИЗ СУСПЕНЗИОННОЙ КЛЕТОЧНОЙ КУЛЬТУРЫ <i>PODOPHYLLUM PELTATUM</i>	
Китаева М. П., Федотчева Т. А.	165
КУЛЬТИВИРОВАНИЕ <i>CHLORELLA VULGARIS</i> ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ	
Боднар О. И., Грубинко В. В.	171
ПРИМЕНЕНИЕ НАНОТЕХНОЛОГИЙ В БИОКУЛЬТИВИРОВАНИИ ТОМАТОВ	
Богословская О. А., Ольховская И. П., Глуценко Н. Н.	179
РАПОНТИКУМ КАРАТАУСКИЙ - ИСТОЧНИК БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ В КУЛЬТУРЕ <i>IN VITRO</i>	
Шайкенова Ж. С., Асанова Г. К., Адекенов С. М.	187
РАЗДЕЛ 6. ФИТОХИМИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ И СТАНДАРТИЗАЦИЯ ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ, СУБСТАНЦИЙ И СОЗДАНИЕ СОВРЕМЕННЫХ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ФОРМ	196
АКТУАЛЬНЫЕ АСПЕКТЫ СТАНДАРТИЗАЦИИ ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ, СОДЕРЖАЩЕГО АНТРАЦЕНПРОИЗВОДНЫЕ	
Куркин В. А., Авдеева Е. В., Рязанова Т. К.	197
АНАЛИЗ КОМПОНЕНТОВ ПЕТРОЛЕЙНОГО ИЗВЛЕЧЕНИЯ ИЗ ЧАГИ (<i>INONOTUS</i> <i>OBLIQUUS</i> (PERS.) PIL.) МЕТОДОМ ГЖХ-МС	
Копытько Я. Ф., Куляк О. Ю., Пащенко С. А., Вдовина Н. И.	203
СОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ МЕТОДОВ АНАЛИЗА ВЕРЕСКА ОБЫКНОВЕННОГО ПОБЕГОВ	
Веремчук О. А., Моисеев Д. В.	210
СОДЕРЖАНИЕ НЕКОТОРЫХ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ ВЕЩЕСТВ В ЯБЛОЧНОМ УКСУСЕ С РАЗНЫХ ПЛОДОВ <i>MALUS DOMESTICA</i> BORKH	
Гончаровская И. В., Левон В. Ф.	216
МИНЕРАЛЬНЫЙ СОСТАВ СБОРА НООТРОПНОГО ДЕЙСТВИЯ	
Доровских Е. А., Ермакова В. А., Ковалева Т. Ю.	222
ИНФРАКРАСНЫЙ ТЕРМОГРАВИМЕТРИЧЕСКИЙ МЕТОД ОПРЕДЕЛЕНИЯ ВЛАЖНОСТИ ЛЕКАРСТВЕННОГО РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ КРУШИНЫ ОЛЬХОВИДНОЙ (<i>FRANGULA ALNUS</i> MILL.)	
Жданов Д. А., Браславский В. Б., Куркин В. А.	227
ЛЮМИНЕСЦЕНТНЫЙ АНАЛИЗ КОРЫ ОРЕХА ГРЕЦКОГО (<i>JUGLANS REGIA</i> L.)	
Зименкина Н. И., Куркин В. А., Рыжов В. М., Тарасенко Л. В.	232

УДК: 57.084[561.263:577.121]

КУЛЬТИВИРОВАНИЕ *CHLORELLA VULGARIS* ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

доцент, д.б.н. Боднар О. И.^{а)}, профессор, д.б.н. Грубинко В. В.

Тернопольский национальный педагогический университет имени В. Гнатюка, Украина, г. Тернополь, ул. М. Кривоноса, 2, 46027

а) Автор для переписки: bodnar_oi@yahoo.com

Аннотация. Целью работы была разработка и апробация биореактора для интенсивного культивирования водоросли *Chlorella vulgaris* Beij. с полностью контролируруемыми условиями температурного, светового и газового режимов на среде Фитцджеральда в модификации Цендер и Горхема №11. Посредством подсчета клеток и количественном определении протеинов, углеводов и липидов показано, что при стабилизации и автоматическом контроле условий культивирования максимальная интенсивность роста в созданном реакторе наблюдалась на 18-е сутки культивирования с содержанием клеток $(269,2 \pm 3,0) \cdot 10^9$ /л и их количеством в стационарной фазе около $(110,1 \pm 4,9) \cdot 10^9$ /л. Это дает возможность выращивать хлореллу в непрерывном режиме со средней производительностью в стационарном режиме около (110 ± 4) мг сухой массы/л с содержанием углеводов – 54,5 %, протеинов около 32 % и липидов – 12,1 %. В то же время, использовании солнечного света и веществ-стимуляторов (некоторых микроэлементов) биосинтеза отдельных классов органических веществ является перспективой дальнейших исследований для изменения соотношения содержания в биомассе водорослей протеинов, углеводов и липидов.

Ключевые слова: хлорелла, фотобиореактор, культивирование, количество клеток, биомасса, протеины, углеводы, липиды.

ВВЕДЕНИЕ

Микроводоросли, как эффективный источник зеленой массы, способны успешно конкурировать с высшими растениями за счет более быстрых темпов роста и возобновления, меньших ресурсных затрат в уходе и выращивании, возможности регуляции метаболизма и целенаправленного получения востребованных соединений. Современные исследования развиваются прежде всего в направлении технологий производства не только продуктов питания, кормовых добавок, биотоплива, утилизации углекислого газа и биоремедиации, но и биологически активных добавок и лекарственных средств [1, 2, 3, 4].

Отметим, что химический состав клеток микроводорослей в значительной степени зависит от состава и условий среды культивирования и их жизненного цикла [5]. Считается, что ключом к успешному культивированию микроводорослей является правильно подобранные условия светового и температурного режимов, достаточное количество источника углерода и возможность поддержания культуры на стационарной фазе роста. При этом, образование вторичных метаболитов, большинство из которых – сложные полимерные соединения, активно происходит в условиях частичного лимитирования факторов выращивания, как эффективный анаболический инструмент резервирования энергии для процессов жизнедеятельности. Собственно, эти соединения и есть потенциально полезными для практического применения человеком – липиды (триацилглицеролы – источник для биотоплива, полиненасыщенные жирные кислоты – ценные пищевые добавки), протеины и пигменты (антиоксиданты, антисептики, корма), полисахариды (составляющие лекарственных, косметических и пищевых компонентов) [4, 5, 6].

Исходя из вышеуказанного, нами изучена возможность длительного культивирования *Chlorella vulgaris* в плоском вертикальном фотобиореакторе при управляемых физико-химических условиях процесса культивирования.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом лабораторного исследования послужила альгологически чистая культура одноклеточной зеленой водоросли *Chlorella vulgaris* Beij., HPDP-119 из коллекций Института гидробиологии НАН Украины (г. Киев). Водоросль культивировали на среде Фитцджеральда в модификации Цендера и Горхема №11 при температуре 22-25°C и освещении интенсивностью 2500-3000 лк в течение 16 часов в сутки [7].

Углекислотное питания обеспечивали баллонным CO₂ с чистотой 99,5% (ДСТУ 4817: 2007, Сорт 1). Показатели температуры среды, pH, содержания O₂, CO₂ контролировали автоматически с помощью встроенных в корпус культиватора электродов (рис. 1). Потребление клетками водоросли CO₂ рассчитывали по разнице поступления и содержанием газа в культуральной среде. Отбор образцов биомассы водоросли осуществляли в течение экспериментального культивирования каждую неделю.

Численность клеток устанавливали с помощью камеры Горяева, а биомассу определяли стереометрическим методом [7].

Гомогенаты клеток хлореллы получали растиранием с кусочками кварцевого стекла. Протеины осаждали 10% -м раствором трихлоруксусной кислоты и центрифугировали при 2500 об / мин в течение 20 мин. В завершении выделения, их солубилизировали 5 мМ КОН 70°C в течение 24 ч, нейтрализовали, высушивали и взвешивали [7, 8].

Углеводы экстрагировали раствором 75% -го этанола, после чего центрифугировали, дважды промывали, снова осаждали центрифугированием, высушивали и взвешивали. Липиды экстрагировали хлороформ-метанольной смесью в соотношении 2:1 по методу Фолча, добавляя на 12 часов к одной массовой доли 20 частей экстракционной смеси, и определяли весовым методом после отгонки смеси [8].

Статистическую обработку результатов исследований проводили с применением программного обеспечения Microsoft Excel и Statistica 10 с использованием параметрических методов оценки полученных данных. Достоверность различий значений между независимыми количественными величинами определяли с помощью t-критерия Стьюдента.

В экспериментальных исследованиях использованы лабораторные приборы: весы аналитические АДВ-200М, термостат ТС-80М, шкаф сушильный стерилизационный ШСС-8, центрифуга лабораторная ЦЛР-1, баня водяная лабораторная БВ-30-6 с соответствующими сроками сертификации и метрологической поверки; а также реактивы фирм «Sigma», «Reanal» и «Химреактив» (квалификация «ч.д.а.»), углекислый газ ДСТУ 4817: 2007, сорт 1 (АО «Львовский химический завод»), приобретенные для химических и биохимических исследований в Тернопольском национальном педагогическом университете.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

Хлорелла – *Chlorella vulgaris* – как биотехнологический ресурс, имеет большой потенциал благодаря быстрому росту культуры, относительной неприхотливости к условиям выращивания и высокому содержанию различных макромолекул. Ее используют для получения биологически активных добавок (БАД) и лекарственных препаратов, как источник биологически доступного протеина, хлорофилла, ряда витаминов, аминокислот и жирных кислот [4, 9].

Вместе с тем, нами ранее показано, что, благодаря включению в состав хлореллы экзогенных микроэлементов, эта микроводоросль может образовывать биологически активные липидные комплексы с потенциально фармакологическим действием [10].

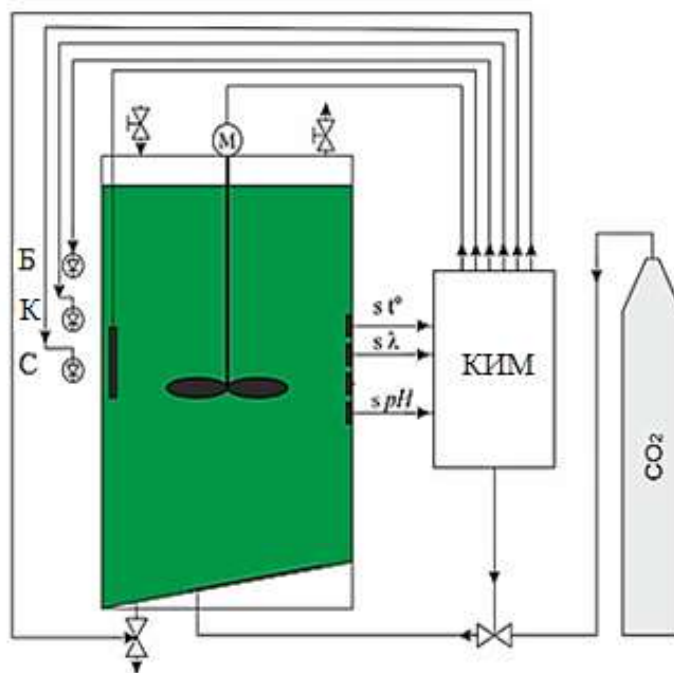
Нужно отметить, что разработано много различных установок и рекомендаций относительно способов культивирования микроводорослей. Как правило, такие технологии разрабатываются под конкретные требования и задачи, поэтому организация нового производства всегда требует доработки, модификации и уточнений. Направления моделирования технологического процесса будет зависеть прежде всего от биологических

особенностей объекта культивирования, экономически-финансового и практического обоснования [1, 6, 11].

На сегодня самыми популярными технологиями для массового выращивания хлореллы являются закрытые фотобиореакторы различных конфигураций и объемов, которые позволяют контролировать физико-химические параметры для эффективного процесса культивирования, автоматически отбирать клетки и подавать свежую питательную среду, а также поддерживать высокую плотность суспензии при максимальной ее производительности [3, 6, 9 11].



а



б

Рисунок 1 - Общий вид плоского вертикального фотобиореактора (ФБР) (а):

1 - ноутбук; 2 - контрольно-измерительный модуль (КИМ) 3 - стеклянная крышка; 4 - кран подачи питательной среды; 5 - система перемешивания; 6 - датчик освещенности; 7 - кран отвода газов; 8 - электромагнитный клапан 220 V; 9 - углекислотный баллон; 10 - система дополнительного освещения LED лентами; 11 - питание системы (электросеть) 12 - датчик рН; 13 - электроподогреватель; 14 - подвижной металлический корпус фотобиореактора 15 - датчик температуры; 16 - датчик концентрации микроводорослей; 17 - аэрационная трубка; 18 - кран CO₂; 19 - кран слива субстрата; 20 - стеклянный корпус;

схема плоского вертикального фотобиореактора (б):

Б, К, С - светодиодные ленты белого, красного и синего цветов; $d t^o$ - датчик температуры среды культивирования; $d \lambda$ - датчик уровня освещенности; $d pH$ - датчик уровня рН.

Технические характеристики: общий объем – 75 литров (1000 мм, 500 мм ширина и 150 мм глубина), рабочий объем – 65 литров; возможность искусственной подсветки по четырем каналам: белый 1, красный, синий, белый 2; возможность автоматически перемешивать культуру, измерять и поддерживать интенсивность освещения, рН и температуру в соответствующих пределах, автоматически подключать баллоны с углекислотой газом, встроенные часы реального времени, подключение к ПК через USB интерфейс, возможность сохранять данные измерений и журналов работы реактора каждую секунду в течение года.

Таким образом, строение данного культиватора имеет ряд преимуществ: простота конструкции, большая световоспринимающая часть для максимального использования естественного освещения с возможностью искусственного дополнительного освещения, возможность терморегуляции и регуляции подачи газов, особенность строения основания, которая выполнена в наклонной форме, что способствует легкому сбору культуры для дальнейших исследований. Данные системы (время, уровень освещенности, рН, температура, продолжительность работы электроподогревателя, дополнительного освещения и открытия режима клапана подачи CO₂) измеряют каждую секунду, записываются во внешнюю память и визуально отображаются на дисплее компьютера (1). Для реализации указанных функций создан соответствующий контрольно-измерительный модуль на базе микроконтроллера ATmega 328 и разработан алгоритм его управления, на основе которого написано соответствующее программное обеспечение.

Стабильность функционирования культиватора подтверждено динамикой основных физико-химических условий среды культивирования водорослей (рис. 2).

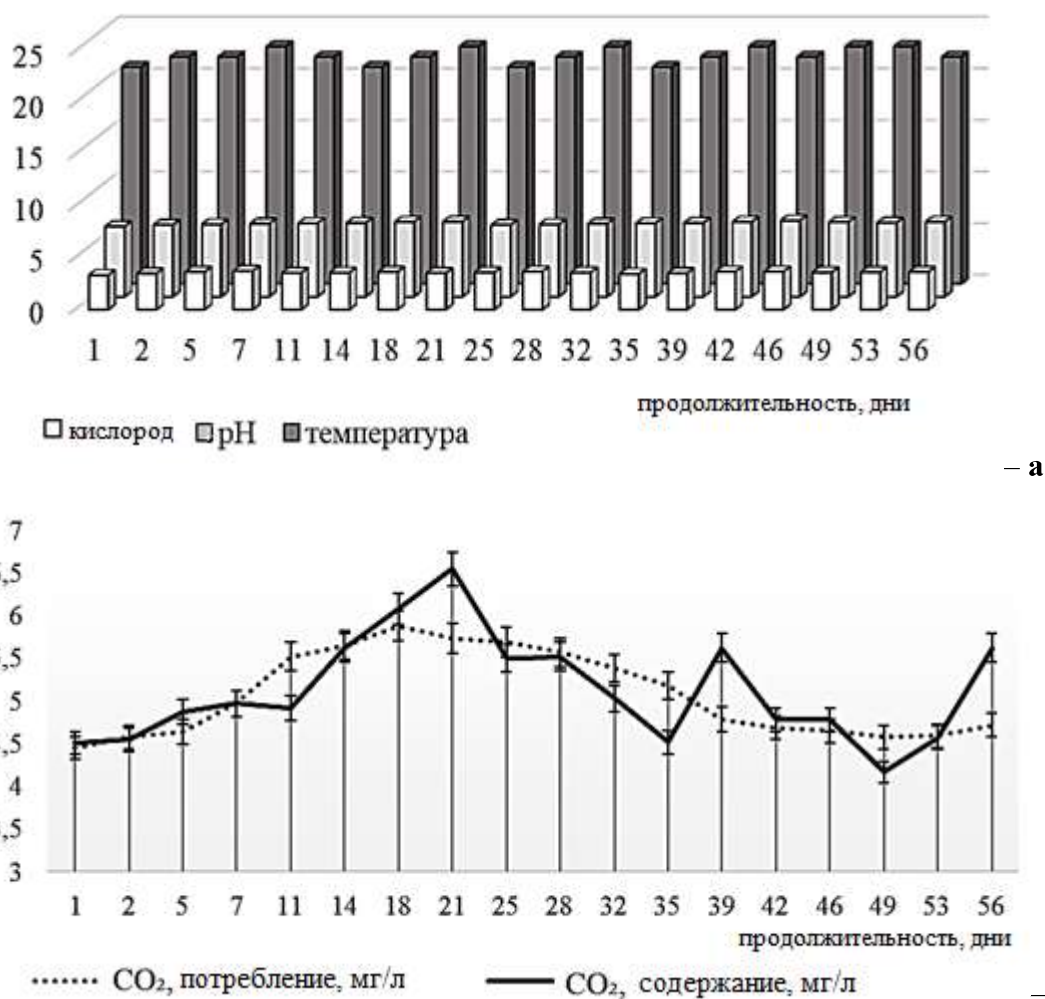


Рисунок 2 - Динамика температуры, кислотности среды культивирования и содержание в ней растворенных O₂ (а) и CO₂ и его потребления (б) *Ch. vulgaris* при выращивании в фотобиореакторе

Отметим, что в течение всего срока культивирования хлореллы температурный режим поддерживался в пределах 22-25°C ($\pm 0,2^\circ\text{C}$), pH = 6,6-7,4. Содержание растворенного кислорода также менялось флуктуационно в пределах 3,5-3,8 мг/л. С помощью системы автоматического включения подачи, содержание CO₂ было на уровне 4,5 - 6,5 мг/л с пиками

поступления, которые соотносились с интенсивностью размножения водорослей и активностью биосинтетических процессов (рис. 3). Это также согласовывалось с ростом интенсивности потребления углекислого газа с максимумом на 15-20 сутки (рис. 2).

Предложенная система предоставила возможность осуществить длительное культивирование *Ch. vulgaris* в стационарном режиме, о чем свидетельствует динамика содержания клеток в культуральной среде (рис. 3).

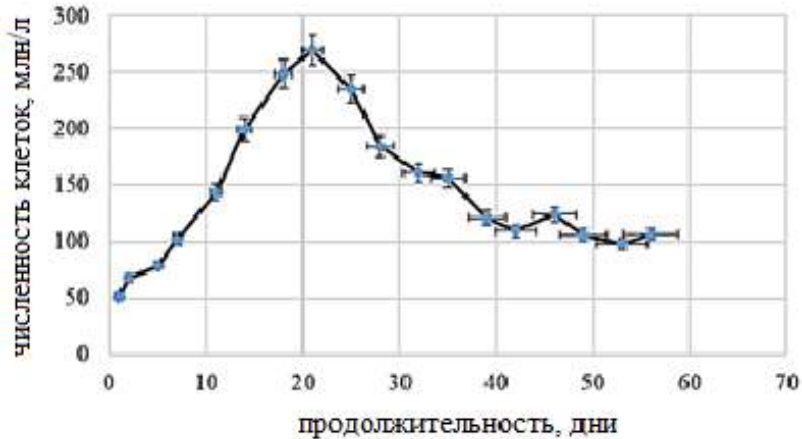


Рисунок 3 - Динамика количества клеток *Ch. vulgaris* при культивировании в фотобиореакторе

В течение первых 18 суток культивирования наблюдали экспоненциальное возрастание количества клеток: в 5,3 раза до $269,2 \pm 3,0 \times 10^9$ клеток/л по сравнению с их количеством в начальной культуре – $51,2 \pm 1,6 \times 10^9$ клеток/л ($p < 0,05$). Далее, в последней трети срока культивирования *Ch. vulgaris* в биореакторе, показатель количества клеток хлореллы находился постоянным в пределах $110,1 \pm 5,2 \times 10^9$ клеток/л (в 2,1 раза больше по сравнению с их количеством в начальной культуре ($p < 0,05$)).

Отметим, что для *Chlorella sp.* из различных природных биотопов наиболее оптимальной для культивирования оказалась среда Фитцджеральда по сравнению со средами Тамия, СТУ-10 или Еленкина при барботации или без нее, в течение 30 суток в люминестате (23-25°C, освещение 2000 лк) [1]. Авторами показано, что на 15-е сутки культивирования получено $5,9 \times 10^9$ клеток/л. При дальнейшем увеличении сроков культивирования до 25 суток концентрация клеток увеличилась еще в 2,5 раза, достигнув величины $14,7 \times 10^9$ клеток/л, то есть количество клеток от начала эксперимента при этих условиях возросло более чем в 5 раз ($p < 0,05$). Эти данные почти соотносятся с полученными нами данными, когда на 25-е сутки культивирования количество клеток по сравнению с исходной увеличилась в 4,6 раза. В наших опытах также подтверждена эффективность среды Фитцджеральда для культивирования хлореллы в длительном режиме. Однако количество клеток по сравнению с результатами описанной работы [1] была на порядок выше, что обусловлено более значительным начальным количеством клеток.

Аналогично динамике количества клеток являлась и динамика биомассы хлореллы и биомассы основных ее органических компонентов (рис. 4).

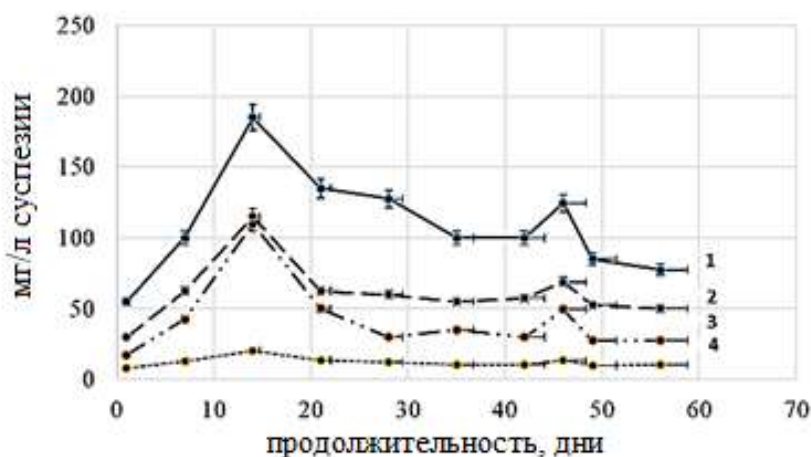


Рисунок 4 - Динамика биомассы и основных макромолекул *Ch. vulgaris* при культивировании в фотобиореакторе, мг сухой биомассы/л суспензии
1 - общая биомасса; 2 - углеводы; 3 - протеины; 4 - липиды.

Так, при этих условиях опыта содержание основных органических компонентов клеток *Ch. vulgaris* составляло от общей биомассы: углеводы – 54,5%, протеины - 32%, липиды – 12,1%. В течение экспоненциальной фазы содержание углеводов выросло в 3,8 раза, протеинов – в 6,3, липидов – в 3,0 ($p < 0,05$). В дальнейшем, к 21-25-му дню культивирования содержание углеводов было на уровне около 60 мг сухой массы/л, протеинов – 35 мг сухой массы/л и липидов – почти 14 мг сухой массы/л.

Авторами Erturk H. и др. [5] также сконструировано аналогичный нашему лабораторный фотобиореактор с целью накопления биомассы *Ch. vulgaris* для получения биоматериала для дальнейших исследований в экспериментальных моделях или природных водоемах. Этот фотобиореактор имел элементы управления воздушной циркуляции, поддерживал температуру 22-26°C и pH среды в пределах 6,5-6,7, продолжительность освещения составляла 16 часов в сутки. Одновременно, в этих условиях было исследовано качественный и количественный липидный состава *Ch. vulgaris* как потенциального сырья для биотоплива или фармацевтических препаратов. Результаты изучения состава липидов показали содержание пальмитиновой кислоты – 28%, линолевой – 26%, гептадекановой – 12%, олеиновой – 10%, пальмитоолеиновой – 3% и стеариновой кислоты – 5%, и другие в незначительных количествах [5].

Таким образом, предлагаемая нами система культивирования способствует накоплению в *Ch. vulgaris* протеинов и углеводов, в меньшей степени липидов. Однако в случае возможного использования хлореллы для получения биотоплива или биологически активных добавок, теплоемкость сухого остатка остается высокой за счет содержания протеинов и углеводов, а повышение содержания липидов можно достичь путем активации их биосинтеза регуляторными факторами и модификацией химического состава среды, что является перспективой дальнейших исследований. Кроме этого, составляет интерес для освещения фотобиореактора максимальное использование солнечного света и культивирования при естественных погодных условиях.

ВЫВОДЫ

Предложенная система культивирования в сконструированном фотобиореакторе способствует интенсивному росту *Ch. vulgaris* и накоплению протеинов и углеводов, в меньшей степени липидов.

Анализ результатов исследования показал, что в разработанном реакторе при стабилизации и автоматическом контроле физико-химических условий культивирования максимальная плотность культуры водорослей в среде Фитцджеральда достигала на 18-е сутки с

содержанием клеток $269,2 \pm 3,0 \times 10^9$ клеток/л со стабилизацией в стационарной фазе в пределах $110,1 \pm 4,9 \times 10^9$ клеток/л, что дает возможность выращивать хлореллу в длительном режиме со средней производительностью около 110 ± 4 мг сухой массы/л с содержанием углеводов 54,5%, протеинов – около 32% и липидов – 12,1%.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Лебедева Л. П. Оптимизация ростовых процессов *Chlorella* и *Spirulina* и использование чистых экстрактов в качестве биологически активных добавок к кормам рыб / Л. П. Лебедева, С. А. Джокебаева // Вестник КахНУ. Сер. Экология. – 2012. – 33 (1). – С. 96 – 99.
2. Chinnasamy S. Biomass production potential of a wastewater algal *Chlorella vulgaris* ARC 1 under elevated levels of CO₂. / S. Chinnasamy, B. Ramakrishnan, A. Bhatnagar // Int. J. Mol. Sci. – 2009. – 10. – P. 518 – 532.
3. Forjan E. Microalgae: fast-growth sustainable green factories / E. Forjan, F. Navarro, M. Cuaresma // Crit. Rev. Environ. Sci. Technol. – 2015. – 45 (16). – P. 1705 – 1755.
4. Liu J. Q. *Chlorella*: industrial production of cell mass chemicals / J. Liu, Q. Hu // Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology / ed. A. Richmond. Oxford: Wiley, Ltd, 2013. – P. 339 – 349.
5. Hu Q. Environmental effects on cell composition / Q. Hu // Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology / ed. A. Richmond. Oxford: Blackwell Science Ltd, 2004. – P. 83 – 93.
6. Erturk H. Growth of microalgae *Chlorella vulgaris* at the photobioreactor for biodiesel production / H. Erturk, M. Sudagidan, M. Yurdakul, H. Oktem // Microbiol. Biotechnol. Rep. – 2018. – 1 (2). – P. 45 – 48.
7. Методы физиолого-биохимического исследования водорослей в гидробиологической практике / ред. А. В. Топачевский. – Киев: Наукова думка, 1975. – 248 с.
8. Методы биохимических исследований (липидный и энергетический обмен): Учебное пособие / ред. М. И. Прохорова. – Ленинград: ЛГУ. – 1982. – 273 с.
9. Lee Y.-H. Basic culturing techniques / Y.-H. Lee, H. Shen // Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology / ed. A. Richmond. Oxford: Blackwell Science Ltd, 2004. – P. 40 – 56.
10. Vinyarska G. B. Effect of selenium-zinc-lipid substances from *Chlorella vulgaris* Beij. on oxidative and metabolism of the rats / G. B. Vinyarska, P. G. Likhatskiy, O. I. Bodnar, L. S. Fira, V. V. Grubinko // Med. Clin. Chem. – 2015. – 17 (4). – С. 10 – 17.
11. Genin S. N. Design of algal film photobioreactors: Material surface energy effects on algal film productivity, colonization and lipid content / S. N. Genin, J. S. Aitchison, D. G. Allen // Bioresour. Technol. – 2014. – 155. – P. 136 – 143.

CULTIVATION OF *CHLORELLA VULGARIS* FOR PRODUCING BIOLOGICAL ACTIVE COMPOUNDS

Associate professor, D.Sc. in Biology Bodnar O. I.^{a)}, Professor, D.Sc. in Biology Grubinko V. V.
Ternopil V. Hnatiuk National Pedagogical University, Ternopil, M. Kryvonosa str. 2, 46027, Ukraine

a) Corresponding author: bodnar_oi@yahoo.com

Abstract. The aim of the research was the development and testing of bioreactor for intensive cultivation of algae *Chlorella vulgaris* Beij. with controlled conditions within the operating parameters according to the selected evaluation criteria of the cultivation process. To check the functional efficiency of the designed photobioreactor the growth of *Chlorella vulgaris* Beij. (*Chlorophyta*) in Fitzgerald's medium modified by Zender and Gorham № 11 under the artificial illumination with daylight electric lamps (intensity of 2 500 Lx) for 16 hours a day at 22–25°C was studied. It was found that at stabilization of culture conditions the maximum value of culture density was observed at the 18th day of cultivation. At this moment, the amount of cells reached $269.2 \pm 3.0 \cdot 10^9$ cells/l, while cells amount in stationary phase was within $110.1 \pm 4.9 \cdot 10^9$ cells/l. This made possible the continuous *Chlorella* cultivation with an average productivity in stationary mode of about 110 ± 4 mg/l of dry mass with protein content about 54.5%, carbohydrates about 32 mg and lipids about 12.1%.

Keywords: chlorella, photobioreactor, cultivation, amount of cells, biomass, proteins, carbohydrates, lipids.

УДК: 581.143:577.175.1.05

ПРИМЕНЕНИЕ НАНОТЕХНОЛОГИЙ В БИОКУЛЬТИВИРОВАНИИ ТОМАТОВ

доцент, к.б.н., Богословская О. А.^{а)}, Ольховская И. П., профессор, д.б.н. Глущенко Н. Н.
Федеральное Государственное Бюджетное Учреждение науки Институт энергетических проблем химической физики им. В.Л. Тальрозе ФИЦ химической физики им. Н.Н. Семенова РАН, Москва, Ленинский пр., 38, корп.2

а) Автор для переписки: obogo@mail.ru

Аннотация. В работе представлены результаты по разработке метода введения наночастиц в питательную среду для выращивания семян томата. Исследовано влияние наночастиц (НЧ) железа, цинка, меди, введенных в питательную среду Мурасиге — Скуга (МС) вместо солей металлов, на всхожесть семян и активность корней томата сорта *Venice*, выращенных в асептических условиях. Показано, что всхожесть семян томата и активность корня растений зависит от вида наночастиц металлов–микроэлементов и их концентрации в питательной среде.

Ключевые слова: наночастицы железа, цинка, меди; всхожесть семян томата; активность корня

ВВЕДЕНИЕ

В последние годы наблюдается повышенный интерес к лекарственным растениям (ЛР) и применению в медицине выделенных из них биологически активных соединений.. ЛР широко применяют как в медицине, так и во многих отраслях пищевой и парфюмерно-косметической промышленности..Большой спрос на лекарственное растительное сырье (ЛРС) привел к сильному увеличению торговли им как на внутреннем, так и на международном рынках. Только международный экспорт ЛРС в 2014 году составил 702,813 тонн, что соответствует 3,60 млрд. долларов США [1]. Европа является одним из главных импортеров ЛРС, хотя и сама выращивает ЛР на площади около 70000 га [2]. Следовательно, лекарственное растениеводство имеет огромный экспортный потенциал, соизмеримый с экспортом углеводов.

В связи с этим, возникает необходимость постоянного увеличения объемов ЛРС и сокращения потерь во время роста и уборки ЛРС, переработке и хранения. Решению этих задач способствуют биотехнологические подходы, позволяющие получать продукт независимо от внешних климатических, почвенных условий, круглогодично и сохраняя при этом естественные ареалы ценных лекарственных растений.

В настоящее время в биотехнологии растений часто используются наночастицы (НЧ) для регуляции синтеза биологически активных веществ в клеточных культурах-продуцентах [3], в качестве биомаркеров для обнаружения бактерий, вирусов и грибов [4]; для доставки ДНК в клетки [5]; в качестве наносенсоров для обнаружения пестицидов [6]. Использование нанотехнологий позволит совершенствовать приемы оздоровления и культивирования посадочного материала, свободного от вирусных, грибковых и бактериальных болезней, клещей и нематод. Важным фактором создания эффективной биотехнологической системы является подбор питательных сред, обеспечивающих потребности культуры ткани продуцента в химических компонентах, необходимых для оптимального роста и развития растений и/или биосинтеза целевого продукта. Обязательными компонентами питательных сред, помимо витаминов и сахарозы как источника углерода, являются смеси минеральных солей (макро-и микроэлементов).

Мы предложили заменить микроэлементы в ионной форме в составе питательной среды на нейтральные НЧ жизненно необходимых металлов. Такую замену мы считаем