

ХЛОРОКОККОВЫЕ МИКРОВОДОРΟΣЛИ КАК ПОТЕНЦИАЛЬНЫЙ ИСТОЧНИК ПРИРОДНЫХ КЕТОКАРОТИНОИДОВ

Определены скорость роста, динамика содержания первичных и вторичных каротиноидов и конечный выход кетокаротиноидов у 4 видов хлорококковых микроводорослей в условиях двухстадийной накопительной культуры. Выявлены потенциальные объекты биотехнологии для получения природных кетокаротиноидов – *Scotiellopsis rubescens* и *Pseudospongiococcum protococcoides*.

Кетокаротиноиды (ККР) – высоко ценные биологически активные соединения, успешно использующиеся в аквакультуре лососёвых рыб и креветок уже на протяжении нескольких десятилетий [5]. В последние 10 – 15 лет ККР астаксантин (АСТ) и кантаксантин (КАН) начали активно применять в медицине, производстве нутрицевтиков и продуктов питания для коррекции окислительного стресса, замедления процессов старения и профилактики ряда системных заболеваний. Показано, что для этих целей более предпочтительны природные формы пигментов, отличающиеся от синтетических аналогов составом изомеров, более высокой биологической активностью и безопасностью [8]. В настоящее время производство природных ККР ограничивается получением астаксантина (АСТ) из микробиологических объектов, среди которых ведущая роль принадлежит зелёной микроводоросли *Haematococcus pluvialis* (Chlamydomonadales) [13]. География массового культивирования этого вида неуклонно расширяется, однако объём мирового валового производства биомассы нарастает медленно ($\approx 300 \text{ т} \cdot \text{г}^{-1}$), а продажная цена водорослевого АСТ почти в три раза выше, чем синтетического [5]. Увеличение спроса на природные ККР в фармацевтической и пищевой промышленности [5, 13] определяет актуальность исследований по поиску их новых, более рентабельных источников. В этом плане особый интерес представляют хлорококковые микроводоросли, среди которых зарегистрировано несколько десятков видов, способных синтезировать АСТ и КАН [6, 11, 14, 16]. К сожалению, литературные сведения об особенностях метаболизма и биотехнологическом потенциале подавляющего большинства из них пока отсутствуют, а немногочисленные данные, имеющиеся для модельных объектов, фрагментарны и по ряду причин плохо сопоставимы. Для восполнения этих пробелов в ИнБЮМ НАНУ начата работа по созданию коллекций живых культур микроводорослей с выраженной способностью к вторичному каротиногенезу (ВКРГ). Сравнительный анализ продукционных характеристик видов при различных условиях выращивания позволит расширить представления о специфике этого явления у представителей различных таксономических и экологических групп, выявить новые промышленно перспективные объекты и разработать практические рекомендации для их интенсивного культивирования. В данной работе представлены первые результаты скрининговых исследований, характеризующие скорость роста и динамику содержания ККР у 4 видов Chlorococcales при экспериментальной индукции ВКРГ.

Материал и методы. Объектами исследования служили *Scotiellopsis rubescens* Vinatz. (штамм IBSS-12 = IPPAS H-350), *Chlorella zofingiensis* Donz (IBSS-20 = CALU-190), *Chlorococcum granatum* (IBSS-11 = CALU-859) и *Pseudospongiococcum protococcoides* Gromov (IBSS-10 = CALU-221). Водоросли выращивали методом двухстадийной накопительной культуры [2, 3] в стеклянных конических колбах объёмом 0,5 л при объёме суспензий клеток 0,35 л. На I стадии (накопления биомассы вегетативных клеток) использовали питательную среду BBM 3N [1]. Интенсивность ФАР на поверхности колб при одностороннем боковом освещении составляла $\approx 102 \text{ мкЕ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$, фотопериод – 15 ч свет : 9 ч темнота, температура среды – 22 – 24 °С. Культуры непрерывно продували воздухом ($1 \text{ л} \cdot \text{мин}^{-1}$), обогащая его CO_2 (0,3 % v/v) в световую фазу в течение 7 ч. На 15-е сут при переходе на II

стадию (вторичного каротиногенеза) клетки сконцентрировали путём центрифугирования (2 мин, 1500 об·мин⁻¹) и перенесли в свежую 10-кратно редуцированную по азоту среду ВВМ, снизив при этом плотность культур $\approx$ в 10 раз и уравнив их по величине сухой биомассы ($\approx$ 0,2 г·л⁻¹). Для индукции биосинтеза АСТ в среду внесли ацетат (NaAc) и хлорид натрия (NaCl) до концентрации 50 мМ и 0,2 М, соответственно. Культуры перевели на круглосуточное двухстороннее освещение (по 140 мкЕ·м⁻²·с⁻¹ с обеих сторон колб) и непрерывный барботаж воздушно-углекислотной смесью (0,3 % CO₂ v/v, 1 л·мин⁻¹) при температуре среды 28 – 30 °С. Продолжительность II стадии составляла 14 сут.

Для сравнительной оценки конечного выхода ККР одновременно с хлорококковыми культивировали *H. pluvialis* (штамм IBSS-72 = FACHB-712) при оптимальном для этого вида условиях, подобранных ранее (модифицированная среда ОНМ, стресс-комплекс – 30 мМ NaAc без NaCl, разведение культур в 2 раза) [2, 3]. Световой, температурный и газовоздушный режимы были такими же, как и для *Chlorococcales*.

Среднюю продуктивность (Р) и удельную скорость роста (μ) культур по численности клеток (N) и содержанию сухого вещества (СВ), средний объём клеток, содержание хлорофилла *a* (ХЛ *a*), суммарных каротиноидов (Σ КР) и их фракционный состав, содержание азота и фосфора в среде определяли методами, описанными ранее [2, 3]. Идентификацию ККР проводили по химическим тестам на наличие кето- и гидроксогрупп, абсорбционным спектрам поглощения в различных растворителях и совместной хроматографии со стандартами [10, 18]. Стандарт КАН получали из цист *Artemia* sp. свободного АСТ – из *H. pluvialis* путем омыления эфиров АСТ [18].

Данные, приведённые в работе, являются средними ($\bar{X}$) из двух биологических и трёх аналитических повторностей. Их вариабельность характеризуется выборочным стандартным отклонением (*s*) или ошибкой средней арифметической (*m*).

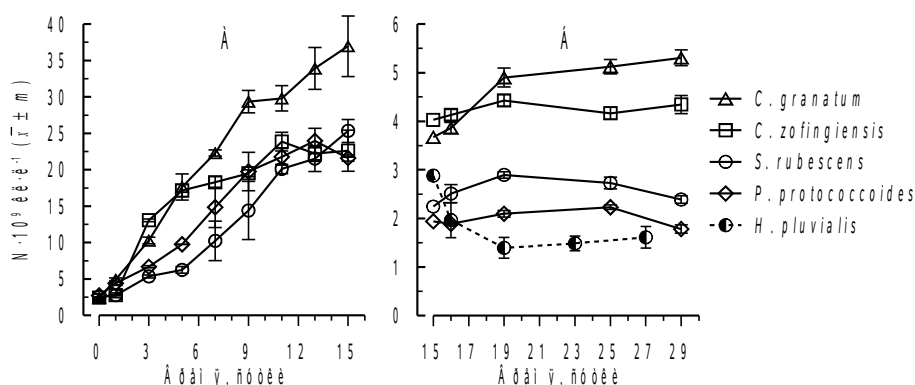
Результаты и обсуждение. Ранее на примере *H. pluvialis* было показано, что в условиях двухстадийной культуры при индукции ВКРГ при помощи NaAc и NaCl конечный выход ККР является результирующей трёх основных составляющих: а) плотности культур в конце I стадии культивирования, т.е. скорости деления вегетативных клеток; б) уровня их смертности в результате стресс-воздействия, индуцирующего ВКРГ; в) интенсивности накопления ККР в формирующихся спорах [2, 3]. Аналогичные критерии использовали и для оценки перспективности исследованных видов *Chlorococcales* как источников ККР.

Ростовые характеристики водорослей на вегетативной стадии культивирования представлены на рис. 1 А и в табл. 1. Анализируя особенности роста продуцентов ККР, следует иметь в виду, что 2 из 4-х использованных в работе видов (*P. protococcoides* и *C. granatum*) в биотехнологическом аспекте исследуются впервые и данные об их потребностях в элементах питания в условиях интенсивной культуры неизвестны. Поэтому для предварительного сравнения скоростей автотрофного роста водорослей была выбрана универсальная питательная среда ВВМ 3N, применяющаяся для коллекционного хранения *Chlorophyta* [1]. Из тех же соображений величины освещённости, температуры и скорости подачи CO₂ находились в середине диапазона, обычно используемого в практике лабораторного культивирования зелёных микроводорослей. При данных условиях максимальная и средняя удельная скорость роста, а также средняя продуктивность культур, рассчитанные по числу клеток ($\mu_{N \max}$, $\mu_{N \text{ ср.}}$ и $P_{N \text{ ср.}}$, соответственно), отмечены у наиболее мелкого вида – *C. granatum* (табл. 1). По среднесуточной скорости накопления СВ в литре культуры ($P_{\text{СВ ср.}}$) объекты исследования были сходны, за исключением хлореллы, у которой величина биомассы в конце вегетативной стадии ($\text{СВ}_{\max}$) была на 35 – 46 % ниже, чем у остальных водорослей. В целом, скорости автотрофного роста хлорококковых, полученные в эксперименте, следует оценить как низкие, почти на порядок уступающие продуктивности миксотрофных и гетеротрофных накопительных культур *Chlorella* и *Chlorococcum* spp. с использованием глюкозы в качестве источника углерода [9, 19].

Вместе с тем, выраженная способность многих видов Chlorococcales к органотрофии не исключает возможность их эффективного культивирования на минеральных средах. Так, в работе [7] показан активный рост *C. zofingiensis* (CCAP 211/14) на среде Арнона при освещённости $480 \text{ мкЕ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ и концентрации CO_2 в газо-воздушной смеси 1 % (v/v). В этих условиях μ_{max} составляла $0,96 \text{ сут}^{-1}$ при максимуме СВ на 10-е сутки – $7 \text{ г} \cdot \text{л}^{-1}$. Еще более высокая скорость роста ($\mu_{\text{max}} > 3 \text{ сут}^{-1}$) отмечена для периодической культуры *Chlorococcum* sp. при выращивании на среде BG-11 в пилотном фотореакторе при естественной освещённости, достигающей в полдень $2000 \text{ мкЕ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$ [15]. Сходные результаты ($\mu_{\text{max}} > 3 \text{ сут}^{-1}$) получены в лабораторном эксперименте для 3 видов рода *Scotiellopsis* (минеральная среда Шетлика, искусственное освещение $260 \text{ мкЕ} \cdot \text{м}^{-2} \cdot \text{с}^{-1}$, 2 % CO_2 , v/v). [11]. Приведённые сопоставления свидетельствуют о высокой вариабельности ростовых характеристик продуцентов ВКР в зависимости от особенностей их биологии и условий среды и указывают на возможность увеличения продуктивности объектов исследования при индивидуальном подборе оптимальных условий культивирования.

Рисунок 1. Динамика численности клеток в культурах хлорококковых микроводорослей на I (А) и II (Б) стадиях культивирования

Figure 1. Cell number dynamics in cultures of chlorococcal microalgae during I (A) and II (Б) cultivation stages



tivation stages

Таблица 1. Ростовые характеристики различных видов Chlorococcales на вегетативной стадии культивирования ($\bar{X} \pm s$)

Table 1. Growth characteristics of different chlorococcal species at vegetative cultivation stage ($\bar{X} \pm s$)

Показатели роста	<i>S. rubescens</i>	<i>C. zofingiensis</i>	<i>C. granatum</i>	<i>P. protococcoides</i>
$\mu_{\text{N max}}, \text{сут}^{-1}$	$0,25 \pm 0,08$	$0,56 \pm 0,09$	$0,72 \pm 0,01$	$0,48 \pm 0,002$
$\mu_{\text{N ср.}}, \text{сут}^{-1}$	$0,15 \pm 0,02$	$0,15 \pm 0,006$	$0,18 \pm 0,007$	$0,14 \pm 0,008$
$N_{\text{max}}, 10^{10} \text{ кл} \cdot \text{л}^{-1}$	$2,53 \pm 0,22$	$2,26 \pm 0,49$	$3,70 \pm 0,59$	$2,16 \pm 0,059$
$P_{\text{N ср.}}, 10^6 \text{ кл} \cdot \text{л}^{-1} \cdot \text{сут}^{-1}$	$1,52 \pm 0,18$	$1,34 \pm 0,22$	$2,30 \pm 0,38$	$1,26 \pm 0,06$
$\mu_{\text{СВ ср.}}, \text{сут}^{-1}$	$0,15 \pm 0,02$	$0,17 \pm 0,004$	$0,19 \pm 0,01$	$0,15 \pm 0,01$
$P_{\text{СВ ср.}}, \text{г} \cdot \text{л}^{-1} \cdot \text{сут}^{-1}$	$0,12 \pm 0,01$	$0,09 \pm 0,01$	$0,14 \pm 0,02$	$0,15 \pm 0,001$
$\text{СВ}_{\text{max}}, \text{г} \cdot \text{л}^{-1}$	$2,15 \pm 0,19$	$1,39 \pm 0,25$	$2,21 \pm 0,35$	$2,59 \pm 0,01$

Сигналом к переводу культур на стадию индуцированного ВКРГ служило полное поглощение азота и фосфора из питательной среды. Для инициирования биосинтеза ККР в клетках Chlorococcales была использована модификация способа, разработанного ранее для *H. pluvialis* [2, 3]. Суть модификации состояла в 10-кратном разбавлении культур при переходе на II стадию культивирования, что в сочетании с двухсторонним освещением позволило существенно (≈ 20 раз) увеличить интенсивность света, проникающего в культуры. Кроме того, концентрацию NaCl и NaAc повысили в 10 и 1,5 раза, соответственно. В ответ на произведённое воздействие у всех видов наблюдалась типичная для

продуцентов ВККР стресс-реакция: прекращение деления клеток (рис. 1 Б), увеличение их размеров и массы за счёт накопления сухого вещества (рис. 2), снижение концентрации фотосинтетических пигментов (рис. 3 Г - Е) и активизация биосинтеза вторичных КР в формирующихся спорах (рис. 3 В).

Рисунок 2. Средние объёмы клеток (А) и содержание сухого вещества в клетках (Б) у различных видов микроводорослей в конце I и II стадий культивирования

Figure 2. Mean cell volume (A) and DW content (Б) of different algae species at the end of I and II cultivation stages

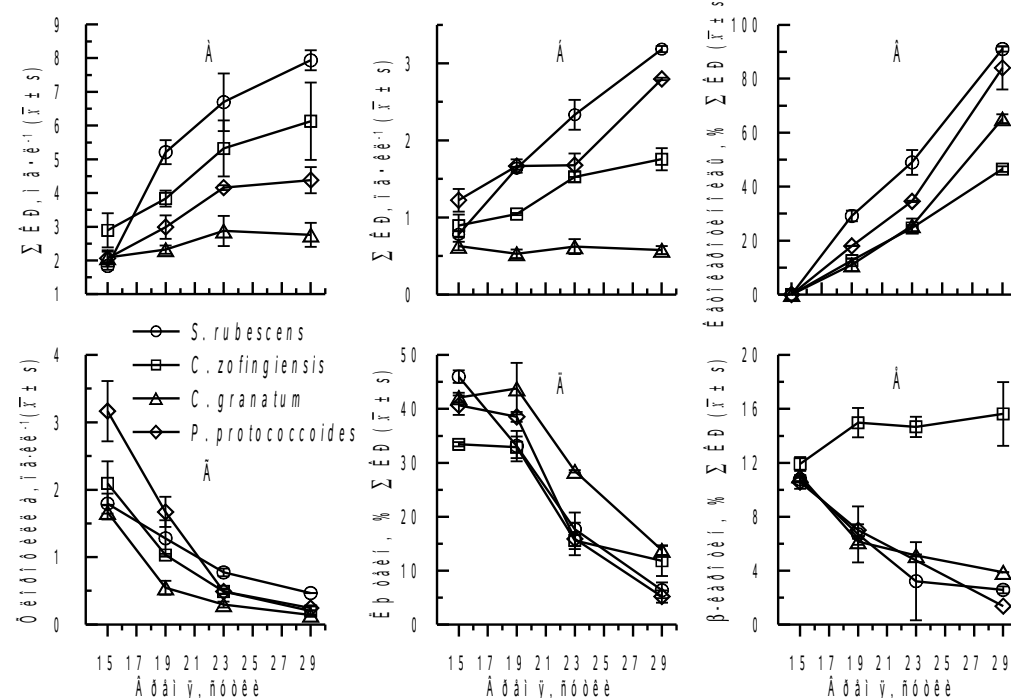
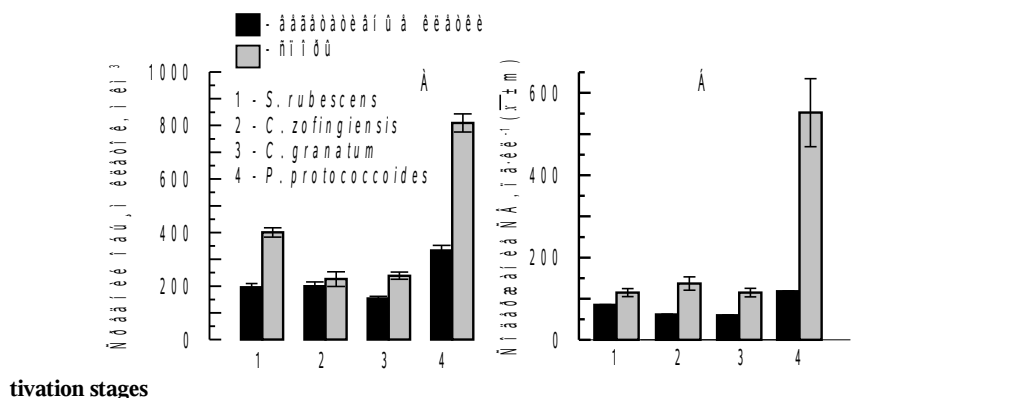


Рисунок 3. Динамика содержания пигментов в клетках водорослей на II стадии культивирования (Σ КР – суммарные каротиноиды)

Figure 3. The dynamics of pigment content in algae cells during II cultivation stage (Σ KP – total carotenoids)

Важной характеристикой исследованных видов, выгодно отличающей их от *H. pluvialis*, является высокая солеустойчивость, проявившаяся в отсутствие гибели вегетативных клеток в постстрессорный период. Их численность сохранялась на одном уровне

на протяжении всей II стадии культивирования (а у *C. granatum* даже увеличилась в 1,5 раза), в то время как у *H. pluvialis*, даже при менее жестком стрессировании только 56 % монад сохранила жизнеспособность и синтезировала ККР (рис. 1 Б).

Максимальная скорость накопления вторичных КР отмечена у *S. rubescens* (рис. 4 А).

Рисунок 4. Средняя скорость накопления суммарных каротиноидов на стадии вторичного каротиногенеза (А) и выход каротиноидов за 29 сут культивирования (Б - В)

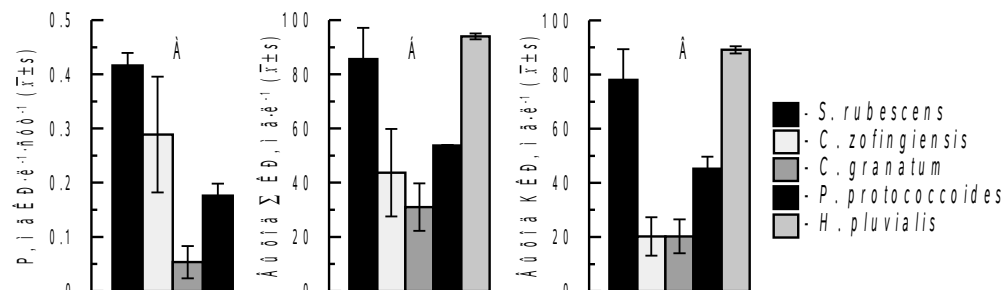


Figure 4. Mean total carotenoid accumulation rate during secondary carotenogenesis stage (A) and crop carotenoids yield for 29 cultivation days (Б - В)

По общему выходу ККР, рассчитанному с учётом разведения культур перед индукцией ВКРГ, скотиллопсис в 2 – 3 раза превосходил остальные хлорококковые и был сходен с *H. pluvialis* при выращивании последнего в условиях, оптимизированных для увеличения выхода АСТ (рис. 4 В). На заключительном этапе (29-е сут) доля ККР в суммарных КР у *S. rubescens* составляла $91,0 \pm 0,9$ % (2,4 % СВ) против $96,3 \pm 5,2$ % у *H. pluvialis* (3,1 % СВ).

Отличительной чертой ВКРГ у *C. zoofingiensis* было необычно высокое содержание β -каротина на протяжении всей II стадии эксперимента ($\approx 15\%$ Σ КР) (рис. 3 Е) при минимальной относительной концентрации ККР ($46,50 \pm 1,04$ % Σ КР) (рис. 3 В).

Самая низкая скорость накопления вторичных КР зарегистрирована у наиболее быстро растущего *C. granatum*, у которого увеличение уровня ККР лишь компенсировало снижение содержания первичных КР лютеина и β -каротина. В результате общий пул КР в клетках водоросли оставался стабильно низким (рис. 3 Б). Тем не менее, итоговый выход ККР у хлорококкума был таким же, как и у хлореллы (рис. 4 В), благодаря самой высокой численности клеток в конце вегетативной стадии (табл. 1) и более высокому, чем у хлореллы, относительному содержанию ККР ($61,2 \pm 1,6\%$ или 0,3 % СВ).

Наряду с *S. rubescens*, как потенциальный источник ККР заслуживает внимания и *P. protococcoides*, не упоминавшийся ранее ни в одной из работ, посвящённых ВКРГ у микроводорослей. Относительное содержание ККР в культурах этого вида варьировало в пределах 78,4 – 89,7 % от суммы КР (0,4 % СВ) при общем выходе $53,8 \pm 0,1$ мг·л⁻¹. Эти величины существенно превышают аналогичные показатели, отмеченные ранее в скрининговых исследованиях («screening» – просеивание, грубая фильтрация) хлорококковых водорослей [6, 11, 16] и находятся в пределах максимальных величин, зарегистрированных в специальных работах по оптимизации методов интенсивного культивирования *Chlorococcum* и *Chlorella* spp. для получения АСТ [9, 12, 19].

Второй особенностью всех исследованных видов, отличающей их от *H. pluvialis*, является присутствие в составе ККР, помимо АСТ, заметного количества интермедиатов его биосинтеза. Содержание индивидуальных фракций мы не определяли из-за неполного разделения между собой свободных полярных ККР, а также моноэфиров АСТ и КАН при одномерной ТСХ на пластинах «Silufol». Однако данные по суммарному содержанию полярных и неполярных фракций (29-е сут), приведённые в табл. 2, всё же позволяют составить некоторое представление о видовой специфике состава вторичных КР у исследованных видов.

Таблица 2. Содержание полярных и неполярных кетокаротиноидов у различных видов хлорококковых микроводорослей
Table 2. The content of polar and non-polar ketocarotenoids of different species of chlorococcal algae

Содержание фракций, % общих каротиноидов ($\bar{X} \pm s$)	<i>S. rubescens</i>	<i>C. zofingiensis</i>	<i>C. granatum</i>	<i>P. protococcoides</i>
Эфиры кетокаротиноидов + кантаксантин	79,13 $\pm$ 0,57	42,72 $\pm$ 1,04	42,73 $\pm$ 1,18	68,54 $\pm$ 7,04
Сумма свободных гидроксо-кетокаротиноидов	11,89 $\pm$ 0,36	3,78 $\pm$ 0,001	22,45 $\pm$ 0,47	15,52 $\pm$ 0,97

В то же время информативность сведений о фракционном составе ККР у хлорококковых при скрининге продуцентов АСТ не следует преувеличивать, так как на примере *Chlorococcum* и *Chlorella* spp. показано, что соотношение АСТ и его интермедиатов существенно меняется в зависимости от природы и интенсивности стресс-воздействия, а также стадии развития ВКРГ [7, 9, 12, 17, 19]. Поэтому при первичной оценке биотехнологической перспективности видов предпочтение следует отдавать более простому в определении критерию – продуктивности культур по выходу суммарных КР, позволяющему одновременно проводить сравнительный анализ большого числа видов. На втором этапе исследований при разработке методов интенсивного культивирования водорослей решающее значение приобретают данные о фракционном составе КР, так как они более четко отражают адекватность технологического режима решению поставленной задачи. При этом следует иметь в виду, что наличие в составе КР, помимо АСТ, «примесей» в виде β -каротина, эхиненона, гидроксизехиненона и криптоксантина, являющихся, в отличие от АСТ, провитаминами А, а также КАН и «зрительного» КР лютеина, не снижает, а напротив, повышает и антиоксидантную активность, и в целом биологическую ценность биомассы и ее экстрактов [4].

Выводы. 1. Действие комплекса стресс-факторов, индуцирующего ВКРГ (острый дефицит элементов питания + 20-кратное увеличение освещенности + 50 мМ NaAc + 0,2 мМ NaCl), вызывало у всех исследованных видов Chlorococcales интенсивное накопление ККР, в составе которых преобладали эфиры АСТ и КАН. 2. Максимальный выход ККР отмечен у *S. rubescens* (85,68 $\pm$ 8,13 мг·л⁻¹) и *P. protococcoides* (53,80 $\pm$ 0,11 мг·л⁻¹). По этому критерию *S. rubescens* не уступал *H. pluvialis* при выращивании последнего в условиях, оптимизированных для увеличения выхода АСТ (89,13 $\pm$ 0,92 мг·л⁻¹). 3. Сопоставимая продуктивность указанных видов, характеризующихся существенным различием в скорости биосинтеза вторичных КР в расчёте на клетку, определялась более высокой плотностью культур хлорококковых в конце I стадии культивирования и отсутствием у них потерь биомассы в постстрессорный период. 4. *S. rubescens* и *P. protococcoides* могут быть рекомендованы для дальнейших исследований по оптимизации методов их культивирования как источников природных АСТ и КАН.

Благодарности. Авторы выражают искреннюю благодарность д.б.н., проф. Д. А. Лосю и д.б.н., проф. А. В. Пиневицу за помощь в получении штаммов микроводорослей из коллекций IP-PAS и CALU и д.б.н., проф. П. М. Царенко за экспертную оценку таксономического статуса *P. protococcoides*.

Работа выполнена в рамках конкурсного проекта НАНУ «Комплексные исследования биологических и экологических ресурсов Азово-Черноморского бассейна и других стратегически важных регионов Мирового океана» (№ госрегистрации 0107U008034).

1. *Культивирование коллекционных штаммов микроводорослей.* – Л.: Изд-во ЛГУ, 1983. – 152 с.
2. Минюк Г. С., Терентьева Н. В., Дробецкая И. В. Сравнительная характеристика морфологических и физиолого-биохимических признаков трех штаммов *Haematococcus pluvialis* Flotow (Chlorophyta, Chlamydomonadales) // Альгология. – 2007. – 17, № 2. – С. 148 – 159.
3. Терентьева Н. В., Дробецкая И. В., Чубчикова И. Н., Минюк Г. С. Влияние освещенности на физиолого-биохимические характеристики зеленой микроводоросли *Haematococcus pluvialis* (Chlamydomonadales) // Экология моря. – 2008. – Вып. 75. – С. 82 – 88.

4. Barua A. B. Bioconversion of provitamin A carotenoids / Carotenoids in health and disease. – New-York: Marsel Dekker: 2004. – P. 295 – 312.
5. Carlsson A. S., van Beilen J. B., Moller R. et al. Micro- and macro-algae: Utility for industrial applications. Outputs from EPOBIO project. – Chippenham: CPL Press, 2007. – 86 p.
6. Czygan F.-C. Primäre und sekundäre Carotenoide in chlorokkalken Algen // Arh. Hydrobiol. Suppl. – 1982. – 60, No 4. – P. 470 – 488.
7. Del Campo A., Rodrigues H., Moreno J. et al. Accumulation of astaxanthin and lutein in *Chlorella zofingiensis* (Chlorophyta) // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2004. – 64, No 6. – P. 848 – 854.
8. Hussein G., Sankawa U., Goto H. et al. Astaxanthin, a carotenoid with potential human health and nutrition // J. Nat. Prod. – 2006. – 69, No. 3. – P. 443 – 449.
9. Ip P.-F. Wong K. H., Chen. F. Enhanced production of astaxanthin by the green microalga *Chlorella zofingiensis* in mixotrophic culture // Process. Biochem. – 2004. – 39. – P. 1761 – 1766.
10. Jeffrey S. W., Mantoura R. F. C., Bjørnland T. Data for identification of 47 key phytoplankton pigments / Phytoplankton pigments in oceanography: guidelines to modern methods. – UNESCO Publishing: Paris, 1997. – P. 493 – 553.
11. Kopecký J., Schoefs B., Loest K., et al. Microalgae as source for secondary carotenoid production: a screening study // Algological. Studies. – 2000. – 98. – P. 153 – 168.
12. Liu B.-H., Lee Y.-K. Secondary carotenoid formation by green alga *Chlorococcum* sp. // J. Appl. Phycol. – 2000. – 12. – P. 301 – 307.
13. Lorenz R. T., Cysewski G. R. Commercial potential for *Haematococcus pluvialis* as a natural source of astaxanthin // Tibtech. Appl. – 2000. – 18. – P. 160 – 167.
14. Margalith P. Z. Production of ketocarotenoids by microalgae // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 1999. – 51. – P. 431 – 438.
15. Masojidek J., Torzillo G., Kopecký J. et al. Changes in chlorophyll fluorescence quenching and pigment composition in the green alga *Chlorococcum* sp. grown under nitrogen deficiency and salinity stress // J. Appl. Phycol. – 2000. – 12. – P. 417 – 426.
16. Orosa M., Torres E., Fidalgo P., Abalde J. Production and analysis of secondary carotenoids in green algae // J. Appl. Phycol. – 2000. – 12, No. 3/5. – P. 553 – 556.
17. Pelah D., Sintov A., Cohen E. The effect of salt stress on the production of canthaxanthin and astaxanthin by *Chlorella zofingiensis* grown under limited light intensity // Wold J. Microbiol. Biotechn. – 2004. – 20. – P. 483 – 486.
18. Rodriguez-Amaya D. B. A guide to carotenoid analysis in foods / Washington: ILSI Press, 2001. – 71 p.
19. Zang D. H., Lee Y.-K. Two-step process for ketocarotenoid production by a green alga, *Chlorococcum* sp. strain MA-1 // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2001. – P. 537 – 540.

Інститут біології южних морей НАН України,
Севастополь, Україна

Получено 15 мая 2009 г.

І. І. М. ЧУБЧИКОВА, Г. С. МІНЮК, І. В. ДРОБЕЦЬКА, Н. В. ДАНЦЮК

ХЛОРОКОКОВІ МІКРОВОДОРСТІ ЯК ПОТЕНЦІЙНЕ ДЖЕРЕЛО ПРИРОДНИХ КЕТОКАРОТИНОЇДІВ

Резюме

Визначено швидкість росту, динаміка вмісту первинних і вторинних каротиноїдів та кінцевий вихід кетокаротиноїдів у 4 видів хлорококових мікроводоростей в умовах двостадійної накопичувальної культури. Виявлені потенційні об'єкти біотехнології для отримання природних кетокаротиноїдів – *Scotiellopsis rubescens* і *Pseudospongiococcum protococcoides*.

I. N. CHUBCHIKOVA, G. S. MINYUK, I. V. DROBETSKAYA, N. V. DANTSYUK

CHLOROCOCCAL MICROALGAE AS SOURCE OF NATURAL SECONDARY CAROTENOIDS

Summary

Production characteristics (growth rate, dynamics of primary and secondary carotenoid contents and crop ketocarotenoid yield) of four chlorococcal microalgae species in two-stage batch mode have been determined. *Scotiellopsis rubescens* and *Pseudospongiococcum protococcoides* have shown the most biotechnological potential as sources of natural ketocarotenoids.