

Р. Г. ГЕВОРГИЗ, А. В. АЛИСИЕВИЧ, М. Г. ШМАТОК

**ОЦЕНКА БИОМАССЫ *SPIRULINA PLATENSIS* (NORDST.) GEITL.
ПО ОПТИЧЕСКОЙ ПЛОТНОСТИ КУЛЬТУРЫ**

Экспериментально доказано, что оптическая плотность (D_{750}) суспензии *S. platensis* и абсолютно сухой вес связаны линейной зависимостью, коэффициент пропорциональности которой принадлежит промежутку $1,1 \geq \delta \geq 0,66$. Отмечено, что оценка биомассы *S. platensis* посредством измерения оптической плотности культуры с использованием фотоэлектрокалориметра КФК-2 в условиях производства требует осторожности.

Оптические методы широко используются в биологии. В первую очередь свое применение они находят в оценках концентрации тех или иных поглощающих свет объектов: фитопланктона, растворенной органики, бактерий и пр. Идея измерения концентрации поглощающих частиц оптическим методом берет свое начало от методов физхимии, в основе которых лежит один из основополагающих законов оптики — закон Бугера-Ламберта-Бера. Однако, непосредственное приложение этого закона в биологической практике не всегда представляется возможным, поскольку, имея дело с любым живым объектом, мы сталкиваемся с целым рядом трудно поддающихся формализации факторов, которые так или иначе приводят к значительным погрешностям. Существует немало попыток снижения ошибок измерений за счет введения различного рода поправок и уточнений [4, 17], которые продолжают и по сей день [13]. Большое внимание оптическим методам уделяется в лабораторной практике культивирования микроводорослей, особенно, когда дело касается автоматизации управления процессов культивирования в непрерывном режиме [2, 19]. Используются оптические методы и для определения плотности культуры [21]. С этой целью проводят специальные исследования для каждого конкретного случая: для каждого оптического устройства-измерителя, вида микроводорослей, режима культивирования и пр. [1, 8, 18]. Как правило, подобные исследования не являются основной целью работы и расцениваются как вспомогательные, оставаясь без должного внимания. К примеру, нет сомнений в том, что зависимость между оптической плотностью и величиной абсолютно сухого веса *S. platensis*, полученная в работе [14], неприменима для культур низкой плотности. Тем не менее, в некоторых работах [3, 9] авторы свое внимание на этот факт не обращают.

Проблема оценки биомассы *S. platensis* по измерениям оптической плотности культуры особенно остро стоит при культивировании микроводорослей в промышленных масштабах. Существует специально разработанная аппаратура и оптические приборы [12, 20, 22], однако, такие разработки весьма дорогостоящие и, как правило, носят эксклюзивный характер, что препятствует их распространению. Приобретение спецпаратуры не всегда возможно для большинства лабораторий тепличных комплексов. Поэтому возникает необходимость в разработке метода определения плотности биомассы, используя наиболее популярный оптический прибор, который доступен практически каждой химической лаборатории. На наш взгляд в качестве такого прибора вполне сгодится концентрационный фотоэлектрокалориметр КФК-2.

Целью данной работы явилась попытка разработать метод, позволяющий проводить оценку биомассы *S. platensis* посредством измерения оптической плотности культуры с использованием фотоэлектрокалориметра КФК-2.

Материал и методы. Для достижения цели был поставлен ряд экспериментов с проточной и накопительной культурой *Spirulina platensis* (Nordst.) Geitl. из коллекции ИнБИОМ НАНУ. Альгологически чистую культуру во всех экспериментах выращивали на питательной среде Зарука [24].

Эксперимент № 1 проводили в бассейнах размером 0,6×2,7 м, с освещением сверху лампами ДРЛ700, в режиме «12 ч день – 12 ч ночь». Средняя облученность на поверхности суспензии микроводорослей составляла 12 клк. Объем суспензии при глубине 10 см — 76,2 литра. На протяжении всего опыта уровень в 10 см поддерживали дистиллированной водой. Температура на время всего эксперимента оставалась практически постоянной 31±4°C. Культивирование проводили квазинепрерывным непропорционально проточным методом, с удельной скоростью протока среды $\omega=0,1 \text{ сут}^{-1}$. В этом варианте опыта мы пытались имитировать условия культивирования *S. platensis* в теплицах при массовом разведении (рис. 6А).

Эксперимент № 2 проводили на люминистате в цилиндрических стеклянных стаканах, внутренний диаметр которых составлял 24 см. Источником света послужили люминесцентные лампы ЛБ60. Поверхностная облученность дна стакана составляла 5 клк. Суспензию микроводорослей барботировали воздухом не более 0,5 л/мин. Температура в стаканах составляла 33±2°C. Водоросли выращивали методом накопительных культур с различной величиной слоя (оптического пути) суспензии, что позволяло изменять световые условия культивирования и получать различные по форме накопительные кривые. Также водоросли выращивали методом квазинепрерывных культур с различной удельной скоростью протока, что позволяло проводить эксперименты с культурой с заданной оптической плотностью (рис. 6В, 6Г).

В эксперименте № 3 для получения плотных культур использовали метод, описанный в работе [23]. *S. platensis* выращивали в культиваторах плоскопараллельного типа с рабочей толщиной в 1 см. В качестве источника света служили лампы ДРЛ750, средняя освещенность рабочей поверхности составляла около 60 клк. Суспензию перемешивали посредством барботирования воздуха с помощью компрессорной установки (рис 6Д).

Измерение оптической плотности, D_{750} . Для измерения оптической плотности использовали КФК-2 с набором кювет 0,3075, 0,504, 1,085 и 3,105 см. Поскольку КФК-2 не предназначен для измерений рассеивающих свет образцов, показания прибора в значительной степени зависят от положения кюветы в кюветодержателе (рис. 1Б). При использовании различных кювет во всех измерениях кювету устанавливали таким образом, чтобы ее геометрическая середина всегда находилась на расстоянии 6,3 см от флажка, закрывающего фотоанод. Для сопоставления результатов измерений все расчеты вели в пересчете на кювету 0,504 см., используя соответствующий коэффициент пропорциональности (рис. 1А). Если оптическая плотность культуры превышала 0,6 ед., то измеряли долю пропускания T_{750} с последующим пересчетом $D_{750} = -\lg T_{750}$. Для слабо поглощающих проб использовали кюветы с большим номинальным значением. Пробы с оптической плотностью выше единицы предварительно разбавляли свежей питательной средой, подбирая коэффициент разбавления таким образом, чтобы показания КФК-2 попадали в диапазон наименьшей погрешности (0,2-0,6 единиц) [10]. Разбавление проб 1:1 дает относительную ошибку не более 10 %. При большем коэффициенте разбавления (до 1:5) ее значение попадает в диапазон 10 – 15 %. Относительная ошибка при разбавлении более чем в 6 раз составляет 16 – 20 % (рис.2). Из-за возрастающей погрешности, в наших измерениях, исключая плотные культуры, разбавления более чем 1:1 не применялись. Во избежание агглютинации клеток при разбавлении пробы следили за тем, чтобы температура питательного раствора и культуры различалась не более чем на 3°C. В кювету сравнения во всех измерениях заливали питательную среду Зарука.

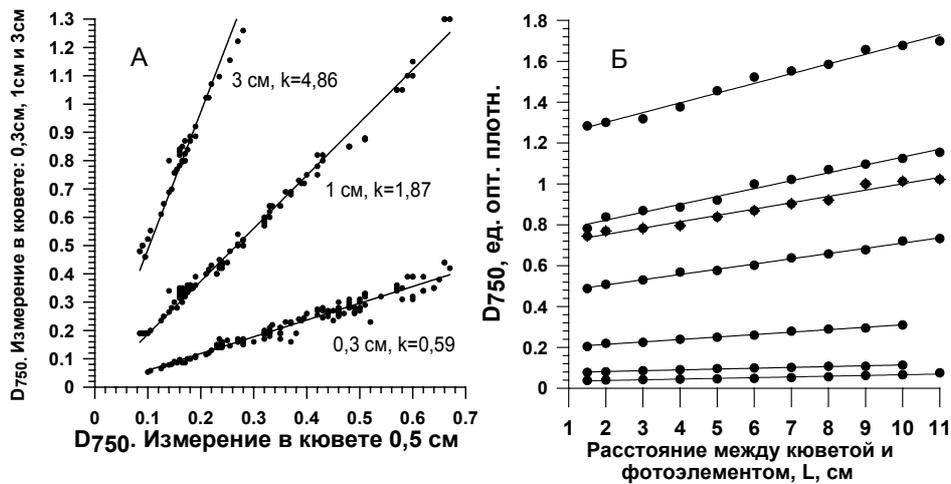


Рисунок 1. А — оптическая плотность D_{750} суспензии *S. platensis*. Измерения в различных кюветках; k — коэффициент пропорциональности; Б — зависимость оптической плотности D_{750} от положения кюветы (0,5 см) в кюветодержателе для суспензии *S. platensis* различной плотности.

Figure 1. А — optical density D_{750} of suspension *S. platensis*. Measurements in various ditches, k - factor of proportionality; Б — dependence of optical density D_{750} on position ditches (0.5 cm) in the holder of ditch for suspension *S. platensis* various density.

Во всех измерениях погрешность величины пропускания не превышала $\pm 0,5\%$ ($n=30$), что вполне согласуется с приборной погрешностью [10]. Связь стандартного отклонения и среднего значения каждой серии представлена на рисунке 3Б.

Измерение абсолютно сухого веса (АСВ). Биомассу *S. platensis* определяли методом фильтрации суспензии микроводорослей через бумажные фильтры «красная

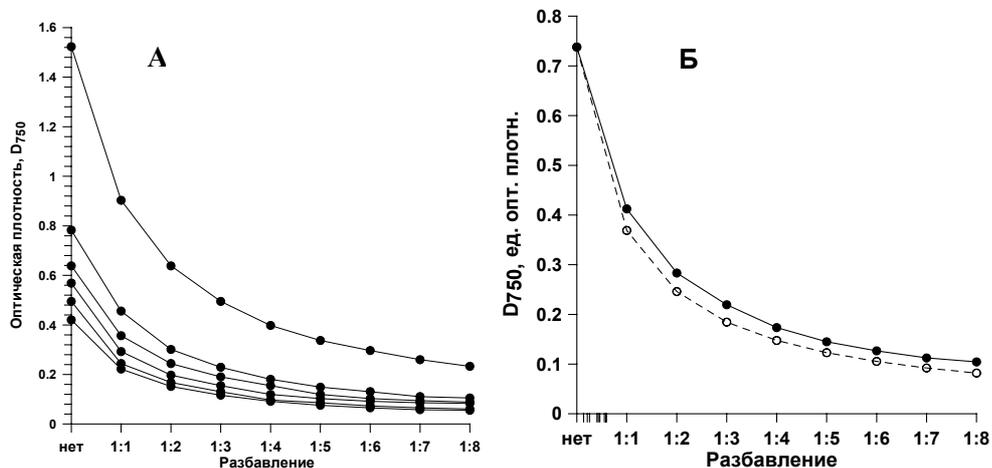


Рисунок 2. Зависимость оптической плотности от величины разбавления: А — для шести проб разной плотности; Б — усредненная экспериментальная кривая, пунктиром показана усредненная теоретическая кривая,

Figure 2. Dependence of optical density on size dilution: А — for six tests of different density; Б — the average experimental curve, is shown by a dotted line the average theoretical curve

лента» (ТУ 6–09–1678–95) [7]. Для этого использовали шприц со специальной насадкой со сменными фильтрами. Шприц калибровали (n=10), по весу дистиллированной воды. При отборе аликвоты 10 мл погрешность составляла $\pm 0,008$ мл.

Ряд фильтров отмывали от остатков солей изотоническим раствором или дистиллированной водой (рис 6Г). В качестве изотонического раствора использовали раствор $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$ [7], приготовленный на дистиллированной воде (20 г/л). В наших условиях оказалось достаточным для промывки 10 мл раствора (рис. 4А). При использовании дистиллированной воды для промывки объем также составлял 10 мл.

Особое внимание уделили процедуре взвешивания фильтров. Чтобы исключить погрешности связанные с поглощением фильтром атмосферной влаги, во всех измерениях АСВ мы вынуждены были отказаться от использования какой-либо посуды для хранения фильтров, например, эксикатора с силикогелем. Аналитические весы располагали в непосредственной близости к сушильному шкафу, что позволяло свести к минимуму время между процедурой взвешивания и извлечения фильтра из сушильного шкафа (рис. 4Б).

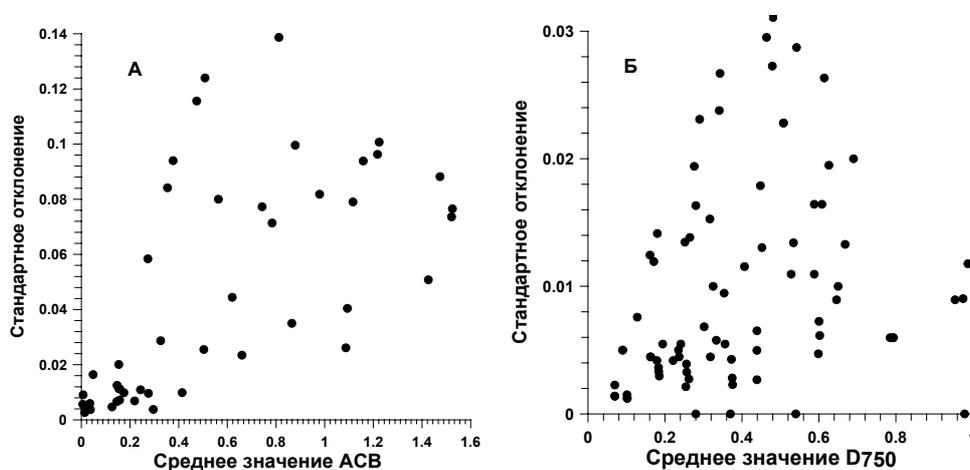


Рисунок 3. Связь стандартного отклонения и среднего (все эксперименты) при измерении: А – абсолютно сухого веса; Б – оптической плотности.

Figura 3. Dependence of a standard deviation and average (all experiments) at measurement: А – absolutely dry weight; Б – optical density

Для взвешивания в первом варианте опыта использовали весы торсионные типа Т-200, в остальных — весы аналитические 2-го класса ВЛР200.

Процедура измерений. Ежедневно проводили отбор серии проб из каждого культиватора. Серия состояла минимум из 5 повторностей по 100 мл каждая. Далее, руководствуясь нижеследующим алгоритмом, для каждой пробы проводили параллельные измерения оптической плотности ($D=750$ нм) и АСВ:

1. Тщательное перемешивание суспензии микроводорослей в пробе;
2. Измерение оптической плотности D_{750} пробы (или процента пропускания);
3. Измерение АСВ:
 - а) шприцом без насадки отбирали аликвоту (10 см^3) суспензии;
 - б) процесс фильтрации. После установки насадки со сменным, предварительно доведенным в сушильном шкафу до постоянного веса, бумажным фильтром аккуратно, доводили поршень шприца до нулевой отметки;

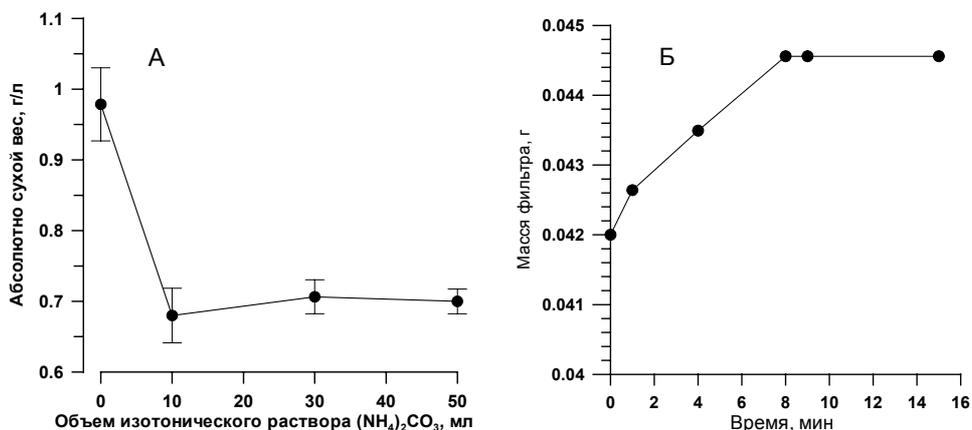


Рисунок 4. А — объем раствора $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$, необходимого для отмывки фильтров от остатков солей питательной среды; Б – динамика веса фильтра, после извлечения из сушильного шкафа.

Рисунок 4. А — Volume of a solution $(\text{NH}_4)_2\text{CO}_3$, necessary for cleaning filters from the rests of salts of a nutrient medium; Б – changes of weight of the filter, after extraction from drying box

- в) чтобы отмыть фильтр с отфильтрованной биомассой от остатков солей, через него пропускали изотонический раствор или дистиллированную воду, используя тот же прием фильтрации;
- г) на заключительном этапе отмывые фильтры с биомассой пинцетом переносили на чашку Петри и высушивали 24 часа при $105 \pm 3^\circ\text{C}$ в сушильном шкафу. По разнице весов фильтров до и после фильтрации определяли АСВ *S. platensis* в отфильтрованном объеме. Далее проводили пересчет на 1 л.
4. Измерение оптической плотности остатков (супернатанта), т.е. того, что оставалось на выходе после фильтра. Эта процедура служила своего рода контролем качества фильтрации, на тот случай, если фильтр оказывался поврежденным. На основе измерений 144 проб (соответственно и 144 проб супернатанта) можно утверждать, что сквозь фильтр проходило не более 17 % поглощающих свет частиц;
5. После измерений оставшаяся часть пробы возвращалась в культиватор;
6. Проверка каждой выборки на промахи методом Граббса [11];
7. Расчет среднего в каждой выборке и построение графика $D_{750}(\text{ACB})$;
8. Если какие-либо точки на графике нам казались подозрительными, для проверки проводили дополнительные измерения.

При проверке выпадающих измерений (промахов) мы вполне могли повторить эксперимент и сделать дополнительные измерения. Чтобы исключить влияние адаптационных явлений на оптические характеристики суспензии, все измерения в опытах с проточной культурой проводили до процедуры обмена.

Эксперимент № 4. Для получения сырой биомассы (пасты) *S. platensis* выращивали в промышленных культиваторах открытого типа (бассейнах 5×2 м) при естественном освещении. Водоросли выращивали методом квазинепрерывных культур в культиваторах, которые размещались в обычной стеклянной теплице для сельскохозяйственных культур. Чтобы исключить попадание нерастворимого осадка со дна бассейна отбор некоторого объема суспензии проводили с поверхности бассейнов спустя 8-10 мин после тщательного перемешивания суспензии ручной мешалкой (см. рис.5А). После концентрирования биомассы на планктонном сите 75ПЭ, полученную таким образом пасту разделили на 20 неравных по массе частей (проб). Навески семи проб высушивали в тени теплицы на полиэтилене до воздушно-сухой стадии, затем при $105 \pm 3^\circ\text{C}$ — до абсолютно

сухого веса, с тем чтобы определить процентное содержание абсолютно сухой биомассы в пасте *S. platensis*. По семи измерениям эта величина составила 17 ± 0.03 %.

Остальные 12 навесок пасты растворяли в различных объемах свежей питательной среды. После тщательного перемешивания суспензии каждой пробы проводили серию ($n=5$) измерений оптической плотности D_{750} с последующим осреднением результатов измерений. Объем среды подбирали таким образом, чтобы оптическая плотность не превышала 1 ед. Заведомо известные концентрации сопоставляли соответствующей оптической плотности, что позволило получить зависимость, представленную на рис. 6Б

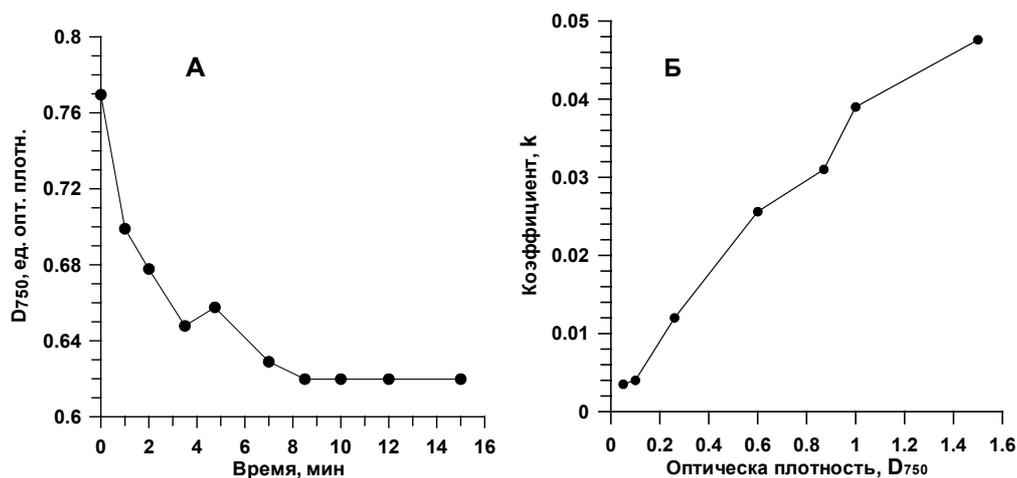


Рисунок 5. А – динамика оптической плотности D_{750} суспензии *S. platensis* в условиях производства после перемешивания суспензии; Б — зависимость угла наклона k семейства кривых от оптической плотности (см. рис 1Б).

Figura 5. А – changes of optical density D_{750} of suspension *S. platensis* in conditions of manufacture after hashing suspension; Б — dependence of a corner of an inclination k families of curves from optical density (see fig. 1Б).

Результаты и обсуждения. Для определения функциональной зависимости концентрации частиц в растворе и оптической плотности обычно предлагается построение калибровочной кривой путем проведения ряда измерений оптической плотности с заранее известными концентрациями. Для оценки биомассы микроводорослей в культуре оптическими методами биологам рекомендован такой же путь [6, 21], при этом биомассу, как правило, определяют прямым счетом клеток, например, в камере Горяева, фильтрацией и сушкой до абсолютно сухого веса, или определением центрифужного объема клеток. Однако, для плотных культур в условиях интенсивного культивирования на производстве непосредственное проведение параллельных измерений D_{750} и АСВ сопровождается большим разбросом данных, поскольку здесь измерения требуют дополнительных манипуляций, как то: разбавление проб, отмывка биомассы от остатков солей, использование различных кювет и пр., — естественно, каждый подготовительный шаг несет свою погрешность, что влечет за собой разброс данных (рис. 6А, 6Б). Положение осложняется также тем, что все операции подготовки и измерения проводятся вручную, поэтому невозможно формально судить о результирующей погрешности измерительной системы [16]. Кроме того, как правило, погрешности измерений биомассы и оптической плотности не являются аддитивными, что требует привлечение достаточно сложных методов статистической обработки данных и большого числа экспериментального материала.

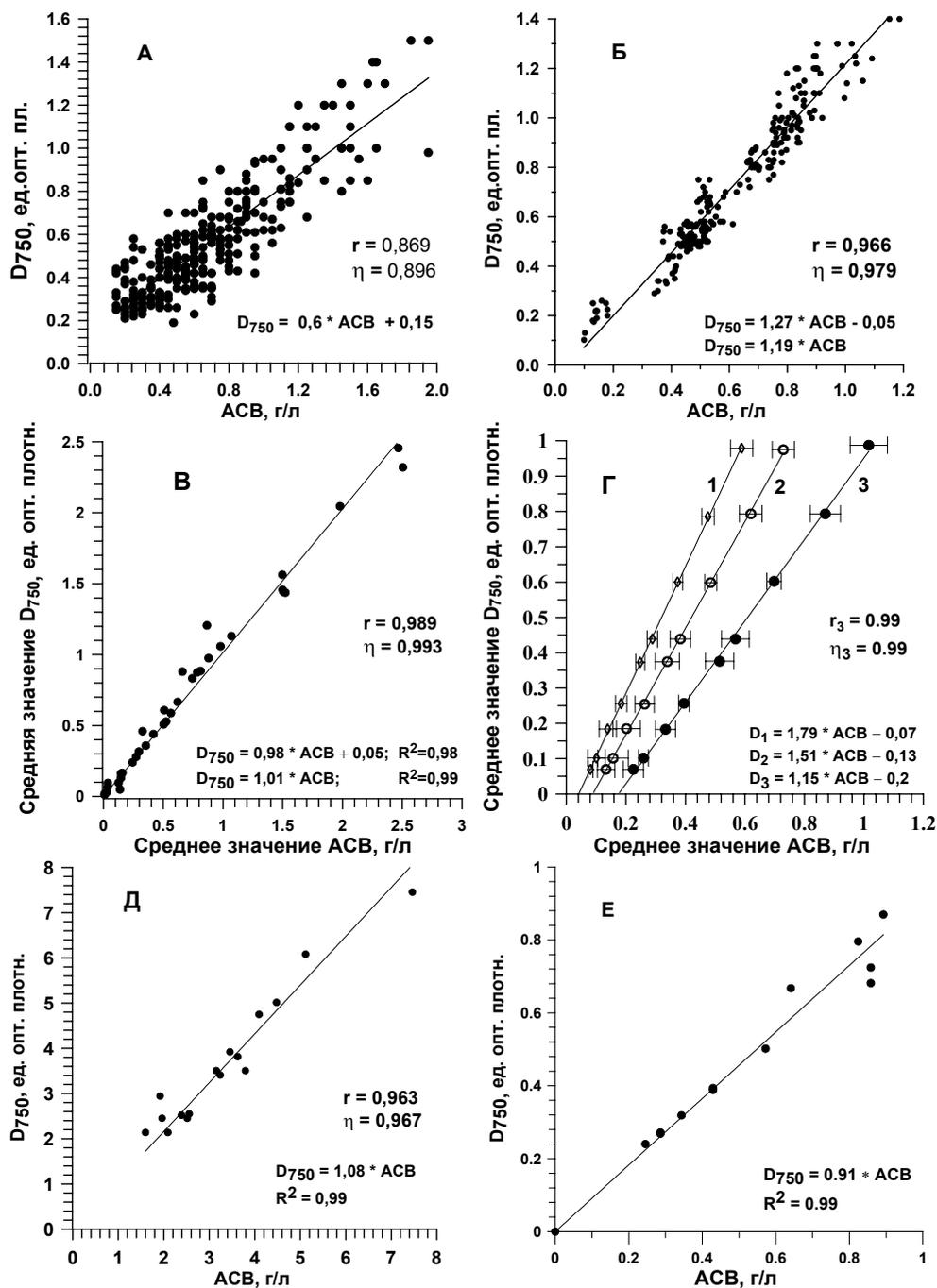


Рис. 6. Связь оптической плотности (D_{750} , кювета 0,5 см) и абсолютно сухого веса (АСВ) *S.platensis*. А – данные эксперимента № 1; Б – данные из работы [14]; В, Г – эксперимент № 2, цифры: 1 – промывка фильтров дистиллированной водой, 2 – раствором $(NH_4)_2CO_3$, 3 – без промывки; Д – эксперимент № 3; Е – эксперимент № 4.

Figure 6. Dependence of optical density (D_{750} , a ditch of 0,5 sm) and absolutely dry weight (АСВ) *S.platensis*. А – data of experiment №1; Б – data from work [14]; В, Г – experiment №2, figures: 1 - washing of filters by the distilled water, 2 - a solution $(NH_4)_2CO_3$, 3 - without washing; Д – experiment №3; Е – experiment №4.

Сделаем замечание касательно измерений величины оптической плотности D_{750} . Во-первых, строго говоря, само понятие оптической плотности предполагает использование закона Бугера-Ламберта-Бера [5], приложение которого в работе с микроводорослями допустимо лишь с некоторыми оговорками [20]. Во-вторых, КФК-2 совсем не предназначен для измерений рассеивающих свет образцов, и мы не вправе говорить об оптической плотности суспензии микроводорослей как таковой. Скорее здесь речь идет о сумме величин: оптической плотности, коэффициента рассеивания и коэффициента отражения. Это замечание весьма существенно, достаточно взглянуть на рисунок 5Б, чтобы убедиться насколько неоднозначно понятие «оптической плотности культуры» при использовании КФК-2. Коэффициент k растет с повышением оптической плотности и расстояния между образцом и фотоанодом. Не учитывая это обстоятельство, можно получить различную «оптическую плотность» для одного и того же образца. В третьих, мы не можем говорить об оптической плотности именно биомассы *S. platensis* (допустим при нулевом коэффициенте рассеивания). На самом деле измеряется оптическая плотность биомассы микроводорослей, сопутствующей микрофлоры, растворенной органики и других поглощающих свет частиц. Поэтому альгологи в своих работах термин «оптическая плотность» часто используют несколько в ином смысле, нежели определяет его закон Бугера-Ламберта-Бера.

По определению величины оптическая плотность (D_{750}) и концентрация поглощающих свет частиц (c) для единичного светового пути связаны линейно:

$$D_{750} = \varepsilon \times c, \quad (1)$$

где ε – коэффициент пропорциональности, который специфичен для каждого вещества. Т.е., зная коэффициент пропорциональности ε для *S. platensis* можно однозначным образом перейти от оптической плотности суспензии к биомассе. Следовательно, задача сводится к расчету коэффициента ε именно для АСВ *S. platensis* в суспензии. Ясно, что, исходя из теоретических соображений, рассчитать этот коэффициент практически невозможно, поэтому для его расчета будем рассматривать D_{750} и c – АСВ в нашем случае¹ – как две случайные величины. Кроме того, будем рассматривать не сами случайные величины, а их условные средние, поскольку у средней дисперсия меньше [15]. Также будем считать, что погрешности измерений D_{750} и АСВ – как случайные величины – нормальные и независимые.

Зависимость (1) в приложении к экспериментальным данным из-за погрешностей измерений может показаться неприменимой, а более целесообразным, особенно в окрестности нуля, использование зависимости $D_{750} = \varepsilon \times \text{АСВ} + a$, где a – коэффициент (рис. 6А, 6Б, 6Г), как сделано это в работе [14]. Однако, точка в нуле является единственной теоретически обоснованной, поэтому любые отклонения от (1) следует отнести к методическим ошибкам. К примеру, налицо присутствие систематической погрешности во всех измерениях, представленных на рисунке 6А и 6Г. Что же касается линейности, то расчеты для данных, полученных различными исследователями показали близость величин корреляционного отношения D_{750} по АСВ (η) и коэффициента корреляции (r), что указывает на наличие именно линейной связи [15] (рис. 6А – 6Д).

Для расчета коэффициента ε на наш взгляд вполне допустимо использование метода наименьших квадратов (МНК), поскольку коэффициент корреляции близок к единице $r > 0,98$ (рис. 6В, 6Г) и, следовательно, несимметричностью МНК можно пренебречь [16]. Заметим, из-за неравноточности измерений по шкале D_{750} при расчете ε по МНК минимизацию следует проводить с учетом дисперсии случайной величины АСВ (это можно доказать), т.е. минимизировать нижеследующее выражение:

¹ Здесь нужно заметить, что понятия c и АСВ не эквивалентны, поскольку АСВ – это лишь то, что осталось на фильтре после процедуры фильтрации суспензии *S. platensis*.

$$\sum_{i=1}^n \frac{(D_{750 i} - \varepsilon \times ACB_i)^2}{\sigma(ACB_i)^2} = \min \quad (2)$$

Однако, при $\gamma > 0,98$ возможно использование более простого выражения

$$\sum_{i=1}^n (D_{750 i} - \varepsilon \times ACB_i)^2 = \min, \quad (3)$$

поскольку МНК с (2) или (3) существенной разницы не дает.

На рисунках 6Б – 6Д представлен результат расчета ε в различных экспериментах. Очевидно, угол наклона ε существенно зависит от способа отмывки фильтров с биомассой от остатков солей при измерении АСВ (рис. 6Г). Следует заметить, что, несмотря на идентичность манипуляций при измерении D_{750} и АСВ, различные исследователи получают различные значения ε . К примеру, представленные данные на рисунках 6Б и 6Г (кривая №1) получены одним и тем же методом (фильтры промывали дистиллированной водой), однако значения $\varepsilon = 1,19$ и $\varepsilon = 1,79$ заметно различаются. Аналогично для данных, представленных на рисунке 6В и 6Г (кривая №3), $\varepsilon = 1,01$ и $\varepsilon = 1,15$ (фильтры не промывались). Причем, разброс среднего результатов измерений в каждом отдельно взятом эксперименте весьма незначителен (рис. 6В, 6Г). Нет сомнений, такая ситуация складывается из-за проведения измерений вручную, что приносит свою особую для каждого исследователя систематическую погрешность и оценить эту погрешность не представляется возможным. Кроме указанной погрешности метод фильтрации для определения АСВ [7] всегда сопровождается другой систематической погрешностью, которая приводит к занижению результатов измерений. Эта погрешность возникает в связи с потерей части биомассы в процессе фильтрации и промывки фильтров от остатков солей, особенно если фильтры с биомассой промывают дистиллированной водой. Таким образом, есть основания полагать, что результаты экспериментов №1, 2, 3 и [14] непригодны для достижения цели, поставленной в данной работе. Хотя,

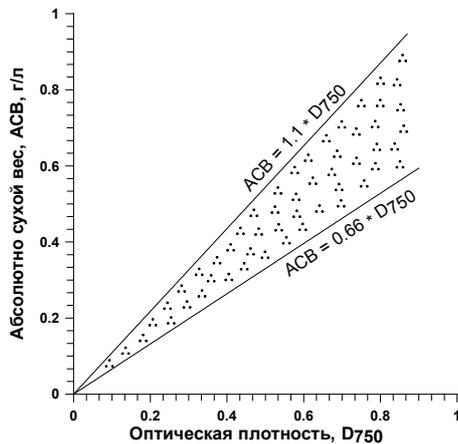


Рисунок 7. Полоса неопределенности в оценке АСВ по D_{750} . Коэффициента пропорциональности: $1,1 \geq \delta \geq 0,66$.

Figura 7. . A strip of uncertainty in estimation АСВ on D_{750} . Factor of proportionality: $1,1 \geq \delta \geq 0,66$

в некотором смысле коэффициент $\varepsilon = 1,51$ (рис. 6Г, кривая 2) отражает свое максимальное значение. И при оценке АСВ по D_{750} можно утверждать, что значение АСВ *не ниже* величины $1/1,51 * D_{750} = 0,66 * D_{750}$.

С другой стороны, опираясь на результаты эксперимента №4 (рис. 6Е) можно рассчитать минимальное значение ε , поскольку в данном случае о потерях биомассы говорить не приходится, существенную роль играет лишь приборная погрешность. Результаты эксперимента №4 – своего рода калибровочная кривая – получены непосредственным измерением оптической плотности суспензии микроводорослей с известной концентрацией клеток, причем оптическая плотность не может быть завышена из-за наличия, предположим, остатков разрушенной биомассы, нерастворимого осадка со дна бассейна и пр. Расчет коэффициента пропорциональности по МНК показал, что значение $\varepsilon = 0,91$,

доверительный интервал: $0,86 \div 0,96$ ($P = 0,95$), – т.е. $\varepsilon = 0,91 \pm 0,05$. Таким образом, зависимость оптической плотности от биомассы *S. platensis* имеет вид $D_{750} = 0,91 * ACB$. И при оценке ACB по D_{750} можно утверждать, что значение ACB не превышает величины $1/0,91 * D_{750} = 1,1 * D_{750}$.

Заключение. На основе результатов наших экспериментов установлено, что оптическая плотность (D_{750}) суспензии *S. platensis* и абсолютно сухой вес (ACB) связаны линейной зависимостью $D_{750} = \varepsilon * ACB$, коэффициент пропорциональности ε которой принадлежит промежутку $0,91 \leq \varepsilon \leq 1,51$. Для обратной зависимости $ACB = \delta * D_{750}$, коэффициент пропорциональности представляется как $1/0,91 \geq \delta \geq 1/1,51$ (рис. 7) или $1,1 \geq \delta \geq 0,66$. Несмотря на широту диапазона, в условиях производства в некоторых случаях значение δ может выходить за границы указанного диапазона, к примеру, проявление агглютинации клеток однозначно будет завышать значение δ , а наличие сопутствующих микроводорослей напротив занижать. Поэтому использование δ для оценки ACB по D_{750} требует осторожности.

1. Абдулаев А. А., Семиненко В. Е. Интенсивная культура *Dunaliella salina* Теод. и некоторые ее физиологические характеристики // Физиол. раст. — 1974. — Т. 21, вып. 6. — С. 1145 - 1152.
2. Бакланов О. Г., Филлимонов В. С., Терсков И. А., Гительзон И. И. О стабилизации оптической плотности культуры при непрерывном культивировании одноклеточных // Управляемое культивирование микроводорослей. — М.: Наука, 1964. — С. 42 - 44.
3. Бородина А. В. Углеродный баланс в культуре цианобактерии *Spirulina platensis* при выращивании на среде Заррука и при замене гидрокарбоната натрия на карбонат натрия // Экологии моря. — 2003. — Вып. 64. — С.78 - 81.
4. Брант А. Б., Тагеева С.В. Оптические параметры растительных организмов. — М.: Наука, 1967. — 302 с.
5. Владимиров Ю. А., Потапенко А. Я. Физико-химические основы фотобиологических процессов. — М., 1989. — 200 с.
6. Владимирова М. Г., Семененко В. Е. Интенсивная культура одноклеточных водорослей. М., 1962. — 60 с.
7. Воронова О. К. Методика определения сухой биомассы микроводорослей в условиях интенсивного культивирования // Альгология. — Т. 4, № 4. — С. 59 - 62.
8. Геворгиз Р. Г. Светозависимое содержание пигментов в микроводорослях. Нестационарный процесс // Альгология. — 1998. — Т. 8, № 1. — С. 69 - 74.
9. Дробецкая И. В., Минюк Г. С., Тренкениу Р. П., Вялова О. Ю. Ростовые и биохимические характеристики *Spirulina platensis* (Nordst.) Geitler при различных условиях минерального питания // Экология моря. - 2001. - Вып. 56. - С. 41-46.
10. Колориметр фотоэлектрический концентрационный КФК-2. Техническая описание и инструкция по эксплуатации. — 55 с.
11. Линник Ю. В. Метод наименьших квадратов и основы математико-статистической теории обработки наблюдений. — М., 1958. — 334 с.
12. Мельников Е. С., Родичева Э.К. Фотоэлектрическое измерение интенсивности агглютинации // Непрерывное управляемое культивирование микроорганизмов. — М.: Наука, 1967. — С. 33 - 37.
13. Мерзляк М. Н., Гительзон А. А., Чивкунова О. Б., Соловченко А. Е., Погосян С. И. Использование спектроскопии отражения в анализе пигментов высших растений // Физиол. раст. — 2003. — Т.50, № 5. — С. 785 - 792.
14. Минюк Г. С., Тренкениу Р. П., Алисисиевич А. В., Дробецкая И. В. Влияние селена на рост микроводоросли *S. platensis* (Nordst.) в накопительной и квазинепрерывной культурах // Экология моря. — 2000. — Вып. 54. — С. 42 - 47.
15. Митропольский А. К. Техника статистических вычислений. — М.: Наука, 1971. — 576 с.
16. Новицкий П. В., Зограф И. В. Оценка погрешностей измерений. — 2-е изд., перераб. и доп. — Л.: Энергоатомиздат. Ленингр. отд-ние, 1991. — 304 с.
17. Рабинович Е. Фотосинтез. — М.: ИЛ. — 1959. — Т.3. — 936 с.
18. Рудик В. Ф., Бульмага В. П., Кирияк Т. В., Чапурина Л. Ф. Продуктивность и биохимический состав *Spirulina platensis* (Nordst.) Geitl. CALU-835 при культивировании в присутствии координационных соединений Zn(II) // Альгология. — 2003. — Т.13, № 3. — С. 322 - 330.

19. Сидько Ф. Я., Ерошин Н. С. Определение концентрации пигментов и числа клеток во взвеси водорослей на фотоэлектроколориметре ФЭКН-57 // Управляемое культивирование микроводорослей. — М.: Наука, 1964. — С. 38 - 42.
20. Сидько Ф. Я., Ерошин Н. С., Белянин В. Н. Датчик оптической плотности, изготовленный на базе фотоэлектроколориметра ФЭКМ // Непрерывное управляемое культивирование микроорганизмов. — М.: Наука, 1967. — С. 31 - 33.
21. Сиренко Л. А. Методы количественного учета роста водорослей в культуре и водоеме / Методы физиолого-биохимического исследования водорослей в гидробиологической практике. — Киев: Нук. думка, 1975. — С. 30 - 50.
22. Штоль А. А., Мельников Е. С., Ковров Б. Г. Расчет и конструирование культиваторов для одноклеточных водорослей. — Красноярск, 1976. — 96 с.
23. Qiang H., Guterman H., Richmond A. Physiological characteristics of *Spirulina platensis* (Cyanobacteria) cultured at ultrahigh cell densities // J. Phycol. — 1996. — Vol. 32. — P. 1066 - 1073.
24. Vonshak A. Appendix III — Grows media and conditions of *Spirulina* // *Spirulina platensis* (Arthrospira): Physiology, cell biology and biotechnology. London: Taylor & Francis, 1997. — P. 218 - 219.

Работы выполнены по заказу фирмы «Агро-Виктория» (г.Сочи, Россия)

Институт биологии южных морей НАН Украины,
г. Севастополь

Получено 15.11.2005

R. G. GEVORGIZ, A. V. ALISIEVICH, M. G. SHMATOK,

**ESTIMATION OF BIOMASS *SPIRULINA PLATENSIS* (NORDST.) GEITL
WITH USE OF OPTICAL DENSITY OF CULTURE**

Summary

It is experimentally proved, that optical density (D_{750}) suspensions *S. platensis* and absolutely dry weight are connected by linear dependence which factor of proportionality belongs to an interval $1,1 \geq \delta \geq 0,66$. It is noted, that the estimation of biomass *S. platensis* to means of measurement of optical density of culture with use of photoelectrocalorimeter KPC - 2 in conditions of manufacture demands care.