

УДК 582.273:573.7:574.6

## БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКИЕ ОСНОВЫ ПРОМЫШЛЕННОГО СПОСОБА ПОЛУЧЕНИЯ ЭКСТРАКТА ФИКОЭРИТРИНА ИЗ БИОМАССЫ КРАСНОЙ МИКРОВОДОРОСЛИ *PORPHYRIDIUM PURPUREUM (BORY) DREW ET ROSS*

© И.Н. Гудвилович, А.Б. Боровков, С.Ю. Горбунова, О.А. Рылькова, А.Л. Авсиян, Т.М. Новикова\*,  
А.Ю. Андреева

Институт биологии южных морей имени А.О. Ковалевского РАН,  
пр. Нахимова, 2, Севастополь, 299011, Россия, novikovat.m@ibss-ras.ru

Красный пигмент В-фикоэритрин (В-ФЭ), входящий в состав светособирающего комплекса микроводоросли *Porphyridium purpureum*, в последние годы находит широкое практическое применение в пищевой, косметической промышленности, фармакологии и в биомедицинских исследованиях. Разработанные технологии широкомасштабного культивирования *P. purpureum*, высокое содержание В-ФЭ в его биомассе являются основой для расширения практического применения этого пигмента. Целью работы являлась разработка способа получения водного экстракта В-ФЭ из биомассы красной микроводоросли *P. purpureum*. Предложена технологическая схема получения пигмента В-ФЭ из биомассы *P. purpureum*, включающая основные этапы: выращивание микроводоросли, отделение полученной биомассы от культуральной среды, разрушение клеточных стенок и экстракция В-ФЭ, идентификация, количественная оценка и контроль качества полученного экстракта, хранение водного экстракта В-ФЭ. Разработаны биотехнологические основы получения экстракта В-ФЭ из микроводоросли *P. purpureum*. Определены оптимальные условия выращивания культуры микроводоросли, хранения ее биомассы, разрушения клеток и экстрагирования пигмента, а также хранения полученного экстракта В-ФЭ. Апробирован и рекомендован способ отделения биомассы *P. purpureum* от культуральной среды с помощью проточного сепаратора. Экспериментально показаны преимущества метода замораживания для длительного хранения получаемой биомассы и водных экстрактов по критерию сохранности пигмента В-ФЭ. Даны общие рекомендации для создания опытно-экспериментального производства пигмента. Предлагаемый способ производства В-ФЭ из *P. purpureum* позволяет получать его экстракт, обладающий интенсивной красно-малиновой окраской, который может быть использован в промышленности в качестве пищевой добавки и красителя.

**Ключевые слова:** биомасса *Porphyridium purpureum*, дезинтеграция клеток, водная экстракция, стабильность В-фикоэритрина, технология.

**Для цитирования:** Гудвилович И.Н., Боровков А.Б., Горбунова С.Ю., Рылькова О.А., Авсиян А.Л., Новикова Т.М., Андреева А.Ю. Биотехнологические основы промышленного способа получения экстракта фикоэритрина из биомассы красной микроводоросли *Porphyridium purpureum* (Bory) Drew et Ross // Химия растительного сырья. 2025. №4. С. 348–358. <https://doi.org/10.14258/jcprm.20250416945>.

### **Введение**

В биотехнологии пигменты, относящиеся к группе фикобилипротеинов (ФБП), являются ценностными природными продуктами с реальным и потенциальным применением в нутрицевтике и фармацевтике, пищевой и косметической промышленности, а также в биомедицинских исследованиях и клинической диагностике благодаря своим гепатопротекторным, противовоспалительным, антиоксидантным и омолаживающим свойствам [1–3]. По своей природе фикобилипротеины являются флуоресцентными белками, ковалентно связанными с хромофорами, выполняющими светособирающую функцию в процессе фотосинтеза в клетках цианобактерий, красных, криптофитовых и некоторых других водорослей [2, 4, 5]. Наибольшее практическое применение находят два представителя этого класса: красный пигмент В-фикоэритрин (В-ФЭ) и синий С-фикоцианин, которые синтезируются в коммерчески значимых количествах красной морской

\* Автор, с которым следует вести переписку.

микроводорослью *Porphyridium purpureum* и цианобактерией *Arthrospira (Spirulina) platensis* [2, 5]. Другие ФБП, содержащиеся в биомассе клеток микроводорослей и цианобактерий, производятся в ультрамальных количествах в основном для исследовательских целей [5].

Кроме ФБП, *Porphyridium purpureum* способен синтезировать в коммерчески значимых количествах такие биологически активные соединения, как сульфатированные полисахариды и ПНЖК, что отражено в многочисленных исследованиях особенностей его роста, синтеза этих веществ, а также потенциального применения в пищевых добавках, функциональных продуктах питания и нутрицевтиках [3]. Так, в различных странах апробированы пилотные установки по выращиванию биомассы *P. purpureum*, однако их потенциал, как правило, определяется типом фотобиореактора (ФБР), а также климатическими условиями зоны выращивания [3, 6, 7]. Кроме того, разработаны и применяются различные методы переработки биомассы микроводорослей, включая отделение ее от жидкой среды, а также извлечения, очистки и характеристики био-продуктов [3].

В общем виде технологический процесс выделения ФБП из биомассы микроводорослей включает следующие этапы:

- отделение микроводорослевой биомассы от культуральной среды, содержащей экзополисахариды (ЭПС) (центрифугирование, сепарирование, электроагуляция);
- разрушение клеточных стенок микроводорослей с помощью химических или физических методов (замораживание с жидким азотом, многократное замораживание-оттаивание биомассы, гомогенизация под высоким давлением, с помощью шариков) или с использованием ферментов, разрушающих клеточные стенки;
- экстракция водорастворимых пигментов;
- отделение жидкой фазы (содержащей ФБП) от фрагментов клеток центрифугированием;
- дополнительная очистка В-ФЭ с использованием методов осаждения, фильтрации и хроматографии.

К особенностям строения клеток *P. purpureum* относится отсутствие жесткой оболочки, а клеточная стена образована полисахаридами, которые также выделяются в культуральную среду [3, 6]. Отмечено, что биохимический состав биомассы, а именно содержание белка и полисахаридов, значительно варьирует под влиянием условий культивирования микроводоросли. Поэтому требуется апробация и оптимизация общей технологической схемы к биомассе каждого вида, полученной в конкретном регионе и условиях, с учетом преимуществ и ограничений применяемых методик [6]. Так, например, химические методы разрушения клеточных стенок, которые включают использование детергентов или других веществ, вполне могут быть использованы при выделении полисахаридов или ПНЖК, однако неприменимы в случае получения ФБП, так как могут повлиять на стабильность белка и усложнить последующие этапы. Подбор ферментов для разрушения клеточных стенок должен учитывать их строение: в случае *P. purpureum* используют ферменты, воздействующие на полисахариды [3].

Таким образом, имеется научная и экспериментальная основа для разработки в промышленных масштабах способа получения водного экстракта В-ФЭ из биомассы микроводоросли *P. purpureum*, выращенной на юге России, что, несомненно, представляет практический интерес.

### Экспериментальная часть

**Культивирование микроводоросли *P. purpureum*.** Водный экстракт В-ФЭ получали из биомассы красной микроводоросли *Porphyridium purpureum* (семейство Bangiales, класс Rhodophyta) штамм IBSS-70 из ЦКП «Коллекция гидробионтов мирового океана» ФИЦ ИнБиОМ. *P. purpureum* культивировали в полупромышленных условиях в теплице из поликарбоната, а также в лабораторных условиях на базе отдела Биотехнологии и фиторесурсов ФИЦ ИнБиОМ. В теплице *P. purpureum* выращивали в накопительном режиме при естественном освещении в культиваторах, имеющих размеры 100×100×15 см, покрытых полиэтиленовой пленкой, в весенне-осенне-зимний период. Глубина рабочего слоя суспензии составляла 10 см, объем – 100 л, перемешивание осуществляли посредством водянной помпы Atman AT-202. В весенний период температуру суспензии поддерживали на уровне 26±1 °C с помощью охладителя Hilea HC-150A. В лаборатории культуру *P. purpureum* выращивали в установках, которые состояли из фотобиореактора, системы подачи газовоздушной смеси, термостабилизирующей системы и системы освещения. Культивирование проводили в накопительном и квазинепрерывном режиме при непрерывном перемешивании воздухом и подаче CO<sub>2</sub> (2–3%). Во всех случаях *P. purpureum* культивировали на питательной среде для морских красных микроводорослей [8], которую готовили на искусственной морской воде с соленостью около 28‰.

Учет гетеротрофных бактерий (ГБРПА) проводили на рыбопептонном агаре, дрожжей и грибов – на среде Сабуро. Для выявления алкалифильных бактерий использовали среду по [9]. Посевы проводили не позднее 30 мин после отбора пробы методом Голда в объеме 40 мкл в двух повторностях. Чашки Петри инкубировали 24–48 ч при 37 °C (термостат ТС-80М, Украина), подсчет колоний образующих единиц (КОЕ) проводили с помощью лупы. При расчете биомассы бактерий использовали коэффициент  $2.0 \cdot 10^{-14} \text{ гС} \cdot \text{кл}^{-1}$  [10]. Содержание углерода в бактериальных клетках принимали равным 11% [11].

*Отделение полученной биомассы от культуральной среды и промывка биомассы.* Биомассу *P. rurpureum* отделяли от культуральной жидкости с помощью центрифуги ОС-6М (ОАО «ТНК «Дастан», Бишкек) и проточного сепаратора GQ-75 («Shenzhou», Китай) при 2500 об. мин<sup>-1</sup>, факторе разделения 1600 g и при 20000 об. мин<sup>-1</sup>, 16000 g соответственно. Процент извлеченной биомассы для методов сепарирования и центрифугирования определяли по разнице сухого веса навесок биомассы при высушивании до постоянного веса, отобранных до и после отделения микроводорослей от культуральной среды. Для метода гравитационного осаждения процент извлеченной биомассы определяли по разнице оптической плотности суспензии до и после осаждения, используя ранее полученный коэффициент перехода от оптической плотности к сухому весу [12]. Осажденная биомасса для удаления солей промывалась водой в количестве, эквивалентном объему слитой культуральной жидкости.

*Хранение полученной биомассы *P. rurpureum*.* Полученную сырую биомассу замораживали в морозильной камере при -18 °C или высушивали в сушильном шкафу (Т 75-50, «Ростовтехника», Россия) при 50 °C.

*Разрушение клеточных стенок *P. rurpureum* и экстракция В-ФЭ.* В случае использования замороженной биомассы перед проведением экстракции проводили процедуры замораживания-размораживания биомассы (5 раз). Для получения водного экстракта В-ФЭ высушеннюю или замороженную биомассу заливали водопроводной водой, у которой pH находился в диапазоне 7–7.5 ед., и проводили экстракцию на холода (5 °C) в темноте на протяжении 24 ч. Отделение экстрактов от биомассы микроводорослей осуществляли с помощью центрифуги TGL-17 (Shuke Instrument Co., Ltd, Китай) при 4500 об. мин<sup>-1</sup> и факторе разделения 3720 g.

*Количественная оценка и контроль качества полученных экстрактов.* Контроль концентраций пигментов осуществляли оптическим методом. Спектры полученных экстрактов В-ФЭ измеряли на регистрирующем спектрофотометре СФ-2000 (ОКБ Спектр, Россия) в диапазоне длин волн от 400 до 800 нм с шагом 0.1 нм. Концентрацию пигмента в водных экстрактах рассчитывали по [4], используя оптическую плотность полученных экстрактов в области характеристических максимумов поглощения В-ФЭ (545 нм), R-фикацианина (615 нм) и аллофикацианина (650 нм). Чистоту водных экстрактов В-ФЭ определяли по положению максимума поглощения в видимой области и соотношению интенсивностей видимого (545 нм) и ультрафиолетового максимумов (280 нм).

*Хранение водного экстракта В-ФЭ из биомассы *P. rurpureum*.* Полученный водный экстракт ФЭ хранили в замороженном состоянии (-18 °C), а с добавлением 20% этилового спирта – в темноте на холода (5 °C).

*Статистическая обработка.* Рассчитывали средние арифметические, стандартные отклонения, основные ошибки средних, доверительные интервалы для средних. Все расчеты проводили в программах Libre Office и Scidavis для уровня значимости 0.05. В таблицах и в тексте представлены средние значения и рассчитанные доверительные интервалы для трех повторностей.

## Обсуждение результатов

Процесс полупромышленного получения водного экстракта В-ФЭ включает несколько последовательных этапов и базируется на использовании: культуры красной микроводоросли *P. rurpureum* в качестве объекта культивирования; интенсивного культивирования данного вида с целью получения качественной биомассы; технологической схемы получения экстракта В-ФЭ на основе биомассы *P. rurpureum*, общий вид которой представлен на рисунке 1.

*Интенсивное культивирование микроводоросли *P. rurpureum*.* В настоящее время наиболее широкое распространение получили два метода промышленного культивирования *P. rurpureum*: выращивание в открытых бассейнах, расположенных в теплицах, требующее минимальных капитальных и эксплуатационных затрат, и выращивание в закрытых фотобиореакторах, в которых поддерживаются оптимальные параметры культивирования при минимальном использовании природных источников энергии (в частности, солнечного излучения) или в полностью контролируемых условиях [3, 6, 7, 13]. Культивирование микроводорослей в условиях естественного освещения является основным способом получения их биомассы в

промышленных масштабах, при этом актуальной является аprobация технологического процесса выращивания конкретной культуры в пилотных установках в связи с существенными различиями лабораторных и промышленных условий (по освещенности, температуре, типу культивационных установок и др.). В отделе Биотехнологии и фиторесурсов ФИЦ ИнБЮМ с 2008 г по настоящее время проведен ряд экспериментов по выращиванию *P. purpureum* как в лаборатории, так и в тепличном модуле в различные сезоны года. В таблице 1 приведены продукционные и биохимические характеристики культуры *P. purpureum*, выращенной на базе ФИЦ ИнБЮМ, которые коррелируют с литературными по существенной разнице продукционного потенциала лабораторных и промышленных установок [3, 6, 7].



Рис. 1. Технологическая схема получения водного экстракта В-ФЭ из биомассы клеток микроводоросли *P. purpureum*

Экспериментально выявлено, что факторами, оказывающими наибольшее влияние на рост *P. purpureum* и содержание фикобилипротеинов в его биомассе, являются минеральное обеспечение и световые условия [6, 12]. Выращивание культуры может проводиться в квазинепрерывном или накопительном режимах, однако в условиях, исключающих лимитирование по элементам минерального питания. В случае накопительного культивирования отбор биомассы осуществляется на линейной стадии роста, а при квазинепрерывном – при осуществлении обмена среды. В таком случае скорость синтеза белковых компонентов максимальна, а количество внеклеточных полисахаридов, препятствующих разрушению клеточных стенок и полноценной экстракции пигмента, минимально [12, 14]. Повышенный уровень освещенности негативно влияет на скорость синтеза В-ФЭ [7], поэтому в контролируемых условиях освещенность культиваторов подбирается таким образом, чтобы способствовать активному росту культуры *P. purpureum* и синтезу В-ФЭ в его клетках [12, 15], а при выращивании микроводоросли в открытых бассейнах проводят притенение в периоды максимальной солнечной активности для избежания перегрева культуры и процессов фотоингибирования [13]. Так, в поздневесенний период при выращивании культуры *P. purpureum* в бассейнах отмечено негативное влияние на нее избыточной солнечной облученности, особенно в момент старта культивирования, когда концентрация клеток минимальна, что необходимо учитывать при его промышленном выращивании [13]. Таким образом, каждый из способов выращивания имеет как свои преимущества, так и недостатки. Существенным преимуществом выращивания *P. purpureum* в закрытых культиваторах и контролируемых условиях является возможность максимизации как скорости роста культуры, так и уровня накопления В-ФЭ в ее клетках, а существенным недостатком – достаточно высокая себестоимость получаемой биомассы. Наиболее существенными проблемами открытых систем являются более низкая среднегодовая

производительность, а также сложность эффективного контроля условий выращивания и поддержания альгологической чистоты культуры.

При выращивании культуры микроводоросли *P. rurpureum* как в лаборатории, так и в тепличном модуле ФИЦ ИнБЮМ в различные сезоны года получаемая биомасса имела следующий биохимический состав, приведенный в таблице 2 [16].

Относительное содержание в биомассе микроводорослей белка и пигментов, имеющих белковую природу, значительно зависит от условий культивирования, особенно от условий минерального обеспечения, и в первую очередь, неорганического азота. Качественная биомасса *P. rurpureum*, полученная при активном росте культуры, содержит от 28 до 40% белка и до 15% В-ФЭ [14, 17]. В целом, биохимический состав получаемой биомассы *P. rurpureum* соответствовал физиологическим нормам для данной культуры, находящейся на стадии активного роста и не испытывающей значительного воздействия каких-либо негативных факторов [14, 17], что указывает на соблюдение технологического процесса выращивания данного вида и оставляет возможность оптимизации процесса производства биомассы порфиридиума для повышения содержания пигмента В-ФЭ (табл. 1, 2).

При проведении исследования физиологических групп микробиального ассоциата в биомассе *P. rurpureum*, полученной при выращивании в тепличном модуле ФИЦ ИнБЮМ, показано абсолютное доминирование гетеротрофных бактерий, растущих на рыбопептонном агаре (при солености 28–30%). Развитие остальных групп микроорганизмов, вероятно, ингибировалось соленостью: микроорганизмы, предпредлагающие среду Сабуро (дрожжи и грибы), и алкалитические бактерии практически отсутствовали. Доля бактериальной составляющей в биомассе микроводорослей была невысокой и составляла около 0.014%, вне зависимости от сезона исследований. Такая численность сопутствующей микрофлоры не оказывала существенного влияния на продукционные характеристики и качество биомассы *P. rurpureum*.

*Отделение полученной биомассы от культуральной среды и промывка биомассы.* При любом способе выращивания *P. rurpureum* (в открытых бассейнах или фотобиореакторах) полученную биомассу необходимо собрать для дальнейшего использования или переработки, т.е. отделить клетки микроводоросли от культуральной среды, что является одним из наиболее затратных этапов при организации производственного процесса (до 30–60% от его общей стоимости). Стандартные методы, применяемые в настоящее время, включают центрифugирование, фильтрацию, флокуляцию, осаждение и флотацию [3]. При проведении оценки эффективности отделения биомассы *P. rurpureum*, полученной при выращивании в тепличном модуле ФИЦ ИнБЮМ, от культуральной среды, были рассмотрены некоторые стандартные методы, применяемые для данной культуры: сепарирование, центрифugирование, а также гравитационное осаждение. Методы флокуляции, флотации, электрокоагуляции не рассматривали, так как они носят пилотный характер и для данной культуры еще не разработаны. Метод фильтрации для *P. rurpureum* неприменим в связи со значительной экскрецией полисахаридов в среду, что вызывает закупорку пор фильтров [3].

Таблица 1. Продукционные характеристики культуры *P. rurpureum* при ее выращивании в контролируемых и полупромышленных условиях ФИЦ ИнБЮМ

Условия выращивания			Продуктивность		Содержание В-ФЭ, мг·г <sup>-1</sup>	Литература
			Биомасса, г·м <sup>-2</sup> ·сут <sup>-1</sup>	В-ФЭ, мг·м <sup>-2</sup> ·сут <sup>-1</sup>		
Бассейны в теплице	накопительный режим	весна	6.9	161.7	23.1±1	[13]
		осень	3.2	52.7	22.8±1	
		зима	2.1	31.7	23.2±3	
Бассейны в лаборатории	квазирежим		6–9.5	420–530	(56±3)–(67±2)	[16]
Культиваторы в лаборатории	накопительный режим	0.4 (г·л <sup>-1</sup> ·сут <sup>-1</sup> )	11.7 (мг·л <sup>-1</sup> ·сут <sup>-1</sup> )	53±3.7	[15]	
		0.55 (г·л <sup>-1</sup> ·сут <sup>-1</sup> )	40 (мг·л <sup>-1</sup> ·сут <sup>-1</sup> )	73±4.5		

Таблица 2. Биохимический состав биомассы микроводоросли *P. rurpureum*

Параметр	Содержание в сухой биомассе, %
Белок	37–40
Углеводы	41–45
Липиды	9–12
Хлорофилл <i>a</i>	0.5–0.7
Каротиноиды	0.2–0.3

Достаточно часто клетки *P. purpureum* объединены в конгломераты и могут осаждаться при отстаивании. Экспериментально установлено, что под действием естественных гравитационных сил оседало около 60% биомассы клеток порфиридиума, причем после 30 мин плотность культуры существенно не менялась и во взвешенном состоянии оставалось еще около 40% биомассы. По сравнению с методом центрифugирования на обработку одного и того же объема культуральной жидкости потребовалось существенно больше времени. При этом доля извлеченной биомассы оказалась в 1.6 раза ниже (табл. 3).

Следует отметить, что культура *P. purpureum* имеет достаточно большую вязкость за счет полисахаридов, выделяемых клетками в среду, причем их количество увеличивается при неблагоприятных условиях и на стадии замедления роста культуры [3, 14]. Таким образом, несмотря на простоту и самого процесса, и его масштабирования, метод гравитационного осаждения имеет ограниченное применение и является малоэффективным, особенно в случае повышенной вязкости культуры *P. purpureum*. Методы с применением оборудования дают возможность эффективно отделить биомассу от культуральной среды, содержащей значительные количества ЭПС, однако достаточно энергоемки (табл. 3). Отделение биомассы *P. purpureum* с помощью сепаратора и центрифуги позволило обработать значительно больший объем суспензии и показало преимущество над методом осаждения как по выходу биомассы, так и по времени, затраченному на отделение микроводорослей от культуральной среды.

Для удаления минеральных солей и оставшейся части ЭПС применяется промывка биомассы водой. При промывке осажденной биомассы *P. purpureum*, полученной при выращивании в тепличном модуле, показано, что увеличение объема воды выше эквивалентного объему культуры не оказывало существенного влияния на вес сухой биомассы (табл. 4).

Промывочная жидкость удаляется с помощью центрифугирования или сепарирования, причем технологический цикл работы проточного сепаратора GQ-75 позволяет после отделения биомассы также осуществить и ее промывку водой, что является преимуществом использования этого оборудования.

*Хранение полученной биомассы *P. purpureum*.* Если по каким-либо причинам невозможно сразу же осуществить дальнейшую переработку биомассы *P. purpureum*, то ее можно сохранить в высушеннем или замороженном состоянии. Замораживание не влияет на содержание В-ФЭ в сохраняемой биомассе. Так, при длительном хранении образцов биомассы микроводоросли *P. purpureum* в замороженном состоянии (при температуре  $-18^{\circ}\text{C}$ ) относительное содержание В-фикаэритрина существенно не изменялось (от  $7.3\pm0.5$  до  $6.9\pm0.4$ ) [18]. Полученную биомассу можно также высушить, однако нужно учитывать, что в этом случае потери пигментов могут быть более значительными. Так, высушивание биомассы *P. purpureum* в диапазоне температур от 30 до  $50^{\circ}\text{C}$  приводило к снижению относительного содержания В-ФЭ на 35% по сравнению с содержанием данного пигмента в сырой биомассе [18].

Таблица 3. Характеристики отделения от культуральной среды биомассы *P. purpureum*, полученной при выращивании в тепличном модуле ФИЦ ИнБЮМ

Метод, оборудование	Мощность прибора, кВт	Время, мин	Объем культуры, л	Сухой вес биомассы, г	% извлеченной биомассы
Сепарирование, сепаратор GQ-75	5	125	500	209	81
Центрифугирование, центрифуга ОС-6М	1.5	25	4	1,72	95
Гравитационное осаждение	—	30	2	0,6	60

Таблица 4. Вес биомассы микроводоросли *P. purpureum* после ее промывки пресной водой

Соотношение по объему культура : вода	Сухая биомасса, г
1 : 1	$0.238\pm0.007$ $0.268\pm0.001$
1 : 2	$0.270\pm0.003$ $0.263\pm0.005$

*Разрушение клеточных стенок *P. purpureum*.* Полнота экстракции ФБП зависит от степени деструкции клеточных оболочек, что обеспечивает доступ растворителя к внутренним компонентам и способствует процессу экстракции. Традиционным методом дезинтеграции биомассы растительного сырья является механическая дезинтеграция (использование шаровых мельниц). Разработанные новые методы, основанные на применении ультразвука, гомогенизации высоким давлением, импульсных электрических полей и микроволн, существенно снижают временные затраты на этот этап, однако требуют специального, часто

дорогостоящего оборудования [3]. Одним из наиболее простых способов дезинтеграции является чередование циклов замораживания-оттаивания, когда разрушение клеточных стенок происходит за счет воздействия микрокристаллов воды. Определение оптимального количества таких циклов является очень важным, так как очень часто однократного цикла недостаточно для полного разрушения клеточных оболочек, а увеличение количества заморозок ведет к росту трудо- и энергозатрат. Экспериментально показано, что для сырой биомассы *P. rurpureum*, отобранный на линейной стадии роста накопительной культуры или при выращивании в квазинепрерывном режиме, шести циклов замораживания-оттаивания достаточно для разрушения основного количества биомембран и последующего извлечения большей части фикоэритрина (85%) [18]. При проведении экстракции из сухой биомассы (как измельченной, так и без измельчения), влияние числа циклов замораживания-оттаивания на степень экстракции В-ФЭ (в диапазоне от 0 до 12) незначительно [18]. Измельчение сухой биомассы на обычной механической мельнице увеличивало выход пигмента на 50% по сравнению с неизмельченной. Следует отметить, что режим измельчения биомассы ультрамельницами, по-видимому, необходимо подбирать опытным путем, так как измельчение биомассы *P. rurpureum* с помощью мельницы Retsch MM 301 в эксперименте привело к разрушению значительной части пигмента, а выход В-ФЭ составил около 14% от содержания пигмента в биомассе [18]. Таким образом, полноценная экстракция В-ФЭ возможна как из сырой, так и из сухой биомассы клеток *P. rurpureum*. В первом случае требуется дополнительная дезинтеграция клеток (проведение циклов замораживания-оттаивания), во втором случае – достаточно измельчения биомассы на механической мельнице.

**Экстракция В-ФЭ из биомассы *P. rurpureum*.** В-ФЭ относится к группе фикобилипротеинов, которые являются водорастворимыми белками и достаточно легко экстрагируются из биомассы микроводоросли *P. rurpureum* водой при пониженной температуре. Соблюдение условий экстракции (рН в диапазоне 7–7.5 ед., температура 3–5 °С и темнота) способствуют сохранению химической структуры В-ФЭ [6, 19, 20]. При апробации этапа экстракции в полупромышленных масштабах выявлено, что технологические процедуры удобнее проводить с высушенной биомассой *P. rurpureum*, так как в этом случае не требуется дополнительных этапов по разрушению клеточных стенок, а сырье не требует для своего хранения больших складских помещений и особого температурного режима. Однако следует учитывать, что даже при оптимальном режиме высушивания определенная часть пигментов разрушается [18]. Использование сырой или замороженной биомассы *P. rurpureum* несколько сложнее по процедуре. Так, как правило, необходимо проведение дополнительного этапа разрушения клеточных стенок (несколько циклов замораживания-размораживания биомассы), при проведении экстракции следует учитывать содержание воды в сырье (около 90%), хранение сырой биомассы ограничено по времени, а замороженной – энергозатратно и требует как больших площадей, так и специального низкотемпературного оборудования. Однако содержание В-ФЭ в биомассе микроводоросли *P. rurpureum* при замораживании не изменяется, а при соблюдении режимов хранения остается стабильным в течение длительного времени [18].

**Идентификация, количественная оценка и контроль качества полученных экстрактов.** Идентификацию фикобилипротеинов проводят с помощью регистрации спектров поглощения полученных водных экстрактов. Чистота растворов ФБП определяется отсутствием примесей других пигментов или других белков. Величина поглощения на 545 нм отражает только концентрацию В-ФЭ, а величина поглощения на длине волны 280 нм, главным образом, обусловлена ароматическими аминокислотами и примерно пропорциональна общей концентрации белков в растворе, включая и ФБП. Считается, что ФБП являются пригодными для пищевых целей, когда  $D_{max}$  ФБП /  $D_{280} \leq 0.7$ , химически чистыми – когда  $D_{max}$  ФБП /  $D_{280}$  находится в диапазоне от 0.7 до 3.9, и аналитически чистыми – когда  $D_{max}$  ФБП /  $D_{280} \geq 4.0$  (где  $D$  – оптическая плотность водных экстрактов) [5, 6]. Полученные экстракты В-ФЭ из сырой и высушенной биомассы *P. rurpureum* (неизмельченной и измельченной на механической мельнице) соответствовали уровню химически чистых ( $1.56 \geq D_{545} / D_{280} \leq 2.09$ ) [18]. В целом, для *P. rurpureum* характерно относительно невысокое содержание белка (около 40%) [14, 17], что, по-видимому, и объясняет достаточно высокую чистоту водных экстрактов В-ФЭ. Более низкий уровень чистоты экстракта В-ФЭ, полученного из биомассы *P. rurpureum*, измельченной на ультрамельнице ( $D_{545} / D_{280} = 0.62$ ) [18], по-видимому, связан с серьезными разрушениями клеточных структур при таком способе обработки и загрязнении экстракта фрагментами белков.

**Хранение водного экстракта В-ФЭ из биомассы *P. rurpureum*.** ФБП весьма чувствительны к условиям окружающей среды, а деградация белковой фракции существенно влияет на стабильность окраски и биоактивность этих пигментов [6, 20], то есть на параметры, являющиеся основными для практического

применения этих пигментов. Высокую скорость деструкции пигментов в этом случае чаще всего объясняют разрушением их под действием негативных факторов, основными из которых являются световой и температурный, а также сопутствующим размножением микрофлоры в экстракте. Для сохранения цвета и предотвращения процессов окисления пигментов белковой природы часто применяют стабилизаторы [20]. Используемые вещества должны соответствовать определенным требованиям: соответствовать уровню безопасности для пищевых продуктов, не вызывать денатурацию белка или изменение его оптических и антиоксидантных свойств [6, 20]. Показано, что добавление 20% этилового спирта в водный экстракт ФЭ существенно снижало скорость деструкции пигмента [21, 22]. Отмечено, что превалирующее влияние на стабильность пигмента оказывал световой фактор, именно он определял скорость деструкции пигмента и сроки хранения В-ФЭ в водно-спиртовых растворах [22]. Необходимыми условиями сохранения В-ФЭ в водно-спиртовом растворе являлись отсутствие доступа света и хранение на холода, что обеспечивало сохранность не менее 85% пигмента от первоначального количества на срок до 90 суток [22].

Кроме того, осуществлено хранение водного экстракта В-ФЭ, полученного по описанной выше схеме из биомассы *P. purpureum* (выращенной в тепличном модуле), в замороженном состоянии (-18 °C) на протяжении 30 суток. На основании спектральных характеристик свежеприготовленного экстракта, а также экстрактов после хранения в замороженном состоянии показано, что концентрация пигмента в растворе к окончанию хранения существенно не отличалась от первоначальной (рис. 2).

При апробации предложенной схемы в ФИЦ ИнБЮМ из биомассы *P. purpureum* получены высококонцентрированные экстракты В-ФЭ (концентрация В-ФЭ 2500–3000 мкг·мл<sup>-1</sup>). Следует отметить, что количество пигмента, перешедшего в раствор в процессе экстракции, определяется его концентрацией в исходном сырье (сырой биомассе), способом ее хранения и обработки, степенью разрушения клеточных стенок, а также качеством промывки биомассы от питательной среды. Полученные результаты демонстрируют стабильность структуры В-ФЭ при хранении полученных водных экстрактов в замороженном состоянии без добавления стабилизаторов, что делает такой способ предпочтительным при введении пигмента в рецептуру косметических препаратов, продуктов питания и напитков как альтернативу химическим пигментам.

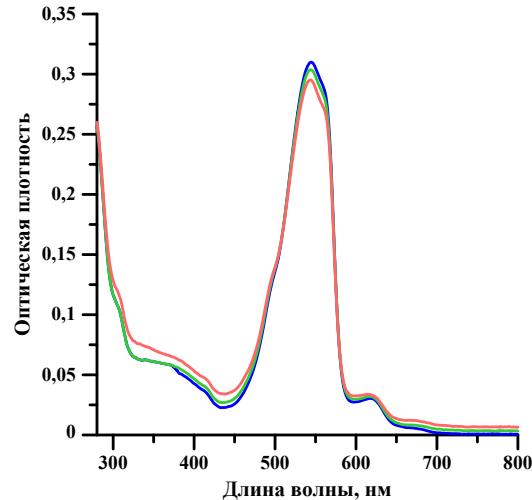


Рис. 2. Спектры поглощения водных экстрактов В-ФЭ из биомассы микроводоросли *P. purpureum*: синим – свежеприготовленный экстракт, зеленым цветом – экстракт после 1 сут. хранения в замороженном состоянии, розовым – экстракт после 30 сут. хранения в замороженном состоянии

### Заключение

Проведено обобщение экспериментальных работ, проведенных в последние годы на базе ФИЦ ИнБЮМ по выращиванию красной микроводоросли *P. purpureum* и получению водного экстракта В-ФЭ из ее биомассы. Разработан технологический процесс выращивания *P. purpureum* в полупромышленных условиях, позволяющий получать качественную биомассу. На основании проведенной серии технологических циклов показана возможность полупромышленного получения высококонцентрированных экстрактов В-ФЭ из биомассы *P. purpureum*. Рассмотрены различные режимы отделения биомассы от культуральной среды, учтены особенности дезинтеграции клеточных стенок и хранения высушенной и замороженной биомассы, разработаны режимы хранения получаемых экстрактов.

Предлагаемый способ производства позволяет получать высококонцентрированный экстракт пигмента интенсивного красно-малинового цвета, соответствующий уровню чистоты не ниже пищевого, который может быть широко использован в промышленности в качестве пищевой добавки и красителя. Возможность использования как сырой биомассы, так и прошедшей обработку (высущенной и замороженной) расширяет сроки хранения сырья и его переработки в зависимости от потребностей конечного потребителя.

#### Финансирование

Работа выполнена в рамках гранта РНФ «Разработка научного обоснования промышленного производства функциональных продуктов питания, включающих экстракты микроводоросли порфиридиум» (№ 24-26-20131) – подразделы: ростовые характеристики *P. rurigaeum*, отделение биомассы от среды и гранта РНФ «Оценка иммуномодулирующих и антиоксидантных свойств водного экстракта фикобилипротеинов (С-фикоцианин, В-фикоэритрин), перспективной кормовой добавки для гигантской устрицы *Magallana gigas*» (№ 24-16-00245) – подразделы: деструкция биомассы, экстракция, хранение, стабилизация В-ФЭ.

#### Конфликт интересов

Авторы данной работы заявляют, что у них нет конфликта интересов.

#### Открытый доступ

Эта статья распространяется на условиях международной лицензии Creative Commons Attribution 4.0 (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), которая разрешает неограниченное использование, распространение и воспроизведение на любом носителе при условии, что вы дадите соответствующие ссылки на автора(ов) и источник и предоставите ссылку на Лицензию Creative Commons и укажете, были ли внесены изменения.

#### Список литературы

1. Manirafasha E., Ndikubwimana T., Zeng X., Lu Y., Jing K. Phycobiliprotein: Potential microalgae derived pharmaceutical and biological reagent // Biochemical Engineering Journal. 2016. Vol. 109. Pp. 282–296. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2016.01.025>.
2. Dagnino-Leone J., Figueroa C.P., Castañeda M.L., Youlton A.D., Vallejos-Almirall A., Agurto-Muñoz A., Pérez J.P., Agurto-Muñoz C. Phycobiliproteins: Structural aspects, functional characteristics, and biotechnological perspectives // Computational and Structural Biotechnology Journal. 2022. Vol. 20. Pp. 1506–1527. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2022.02.016>.
3. Nguyen A.Q., Mohammadi M., Alian M., Muralitharan G., Chauhan V.S., Balan V. Exploring the versatility of Porphyridium sp.: A comprehensive review of cultivation, bio-product extraction, purification, and characterization techniques // Biotechnology Advances. 2024. Vol. 77. 108471. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2024.108471>.
4. Стадничук И.Н. Фикобилипротеины. М., 1990. 196 с.
5. Стадничук И.Н., Тропин И.В. Фикобилипротеины: строение, функции и использование в биотехнологии // Прикладная биохимия и микробиология. 2017. Т. 53, №1. С. 5–15. <https://doi.org/10.7868/S0555109917010184>.
6. Hsieh-Lo M., Castillo G., Ochoa-Becerra M.A., Mojica L. Phycocyanin and phycoerythrin: Strategies to improve production yield and chemical stability // Algal Research. 2019. Vol. 42. 101600. <https://doi.org/10.1016/J.AL GAL.2019.101600>.
7. Schoeters F., Spit J., Swinnen E., De Cuyper A., Vleugels R., Noyens I., Van Mier S. Pilot scale cultivation of the red alga *Porphyridium purpureum* over a two year period in a greenhouse // Journal of Applied Phycology. 2023. Vol. 35. Pp. 2095–2109. <https://doi.org/10.1007/s10811-023-03045-5>.
8. Тренкеншу Р.П., Терсов И.А., Сидько Ф.Я. Плотные культуры морских микроводорослей // Известия Сибирского отделения Академии наук СССР. Серия биологических наук. 1981. Т. 5, №1. С. 75–82.
9. Хадад Р.И., Багдасарян С.Н., Давидян Т.С., Африкян Э.К. Микроводоросль спирулина и ее микрофлора // Биологический Журнал Армении. 1990. Т. 3, №43. С. 235–239.
10. Lee S.S., Furman J.A. Relationships between biovolume and biomass of naturally derived marine bacterioplankton // Applied and Environmental Microbiology. 1987. Vol. 53, no. 6. Pp. 1298–1303. <https://doi.org/10.1128/aem.53.6.1298-1303.1987>.
11. Троицкий А.С., Сорокин Ю.И. К методике расчета биомассы бактерий в водоемах // Труды Института биологии внутренних вод. 1967. №15. С. 85–90.
12. 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. 128771. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2023.128771>.
13. Патент №2832916 (РФ). Способ полупромышленного культивирования красной микроводоросли *Porphyridium purpureum*. / И.Н. Гудвилович, А.Б. Боровков. – 2024.
14. Упитис В.В., Пакалне Д.С., Шулце И.Ф. Оптимизация минерального питания красной морской водоросли *Porphyridium cruentum* // Известия АН Латвийской ССР. 1989. Т. 505, №8. С. 95–104.
15. Gudvilovich I.N., Borovkov A.B. Production characteristics of the microalga *Porphyridium purpureum* (Bory) Drew Ross (Rhodophyta) in batch and quasi-continuous culture // International Journal on Algae. 2014. Vol. 16, no. 3. Pp. 271–283. <https://doi.org/10.1615/InterJAlgae.v16.i3.70>.

16. Гудвилович И.Н., Боровков А.Б., Тренкеншу Р.П. Опыт выращивания микроводорослей-продуцентов БАВ в полупромышленных условиях // Современные технологии продуктов питания: сборник научных статей материалы 2-й Международной научно-практической конференции. Курск, 2015. С. 44–50.
17. Fuentes M.M.R., Fernandez G.G.A., Perez J.A.S., Guerrero J.L.G. Biomass nutrient profiles of the microalga *Porphyridium cruentum* // Food Chemistry. 2000. Vol. 70, no 3. Pp. 345–353. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(00\)00101-1](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00101-1).
18. Тренкеншу Р.П., Гудвилович И.Н., Боровков А.Б. Комплексная схема получения фикоэритрина из биомассы *Porphyridium purpureum* // Экология моря. 2009. №79. С. 44–49.
19. Лось С.И. Биохимические основы получения фикоэритрина из морских водорослей // Альгология. 2008. Т. 18, №4. С. 375–385.
20. Adjali A., Clarot I., Chen Z., Marchioni E., Boudier A. Physicochemical degradation of phycocyanin and means to improve its stability: A short review // Journal of Pharmaceutical Analysis. 2022. Vol. 12. Pp. 406–414. doi:10.1016/j.jpha.2021.12.005.
21. Береговая Н.М. Особенности хранения водного экстракта R-фикоэритрина // Экология моря. 2010. №81. С. 13–16.
22. Гудвилович И.Н., Боровков А.Б. Оценка стабильности фикобилипротеинов оптическим методом при их хранении в водно-спиртовом растворе // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. 2024. Т. 14, №3. С. 362–370. <https://doi.org/10.21285/achb.927>.

Поступила в редакцию 28 февраля 2025 г.

После переработки 29 апреля 2025 г.

Принята к публикации 29 мая 2025 г.

*Gudvilovich I.N., Borovkov A.B., Gorbunova S.Yu., Ryl'kova O.A., Avsiyan A.L., Novikova T.M.\*, Andreyeva A.Yu.*  
BIOTECHNOLOGICAL PRINCIPLES OF THE INDUSTRIAL METHOD FOR THE PRODUCTION OF  
PHYCOERYTHRIN EXTRACT FROM THE BIOMASS OF THE RED MICROALGAE *PORPHYRIDIUM PURPUREUM*

*A.O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas, Russian Academy of Sciences, ave. Nakhimova, 2,  
Sevastopol, 299011, Russia, novikovat.m@ibss-ras.ru*

The red pigment B-phycoerythrin (B-PE), a component of the light- harvesting complex of the microalgae *Porphyridium purpureum*, has gained wide practical application in recent years in food, cosmetics, pharmacology, and biomedical research. The elaborated technologies for large-scale cultivation of *P. purpureum* and the high content of B- PE in its biomass are the basis for expanding the practical application of this pigment. The study was aimed to develop a method for obtaining aqueous B-PE extract from the biomass of red microalgae *P. purpureum*. The technological scheme for obtaining B- PE pigment from *P. purpureum* biomass was proposed, which includes the main stages: cultivation of microalgae, separation of the obtained biomass from the culture medium, destruction of cell walls of *P. purpureum* and B-PE extraction, identification, quantification and quality control of the obtained extract, storage of the aqueous extract of B-PE. The biotechnological principles of B- PE extract production from marine microalgae *P. purpureum* have been developed. Optimal conditions of microalgae culture cultivation, biomass storage, cell destruction and pigment extraction, as well as storage of the obtained B- PE extract were determined. The method of separation of *P. purpureum* biomass from the culture medium using a flow-type separator was tested and recommended. The advantages of the freezing method for long-term storage of the obtained biomass and aqueous extracts in terms of B-PE pigment stability have been experimentally proved. General recommendations for the establishment of pilot production of the pigment are given.

*Keywords:* *Porphyridium purpureum* biomass, cells disintegration, aqueous extraction, B-phycoerythrin stability, technology.

**For citing:** Gudvilovich I.N., Borovkov A.B., Gorbunova S.Yu., Ryl'kova O.A., Avsiyan A.L., Novikova T.M., Andreyeva A.Yu. *Khimiya Rastitel'nogo Syr'ya*, 2025, no. 4, pp. 348–358. (in Russ.). <https://doi.org/10.14258/jcprm.20250416945>.

## References

1. Manirafasha E., Ndikubwimana T., Zeng X., Lu Y., Jing K. *Biochemical Engineering Journal*, 2016, vol. 109, pp. 282–296. <https://doi.org/10.1016/j.bej.2016.01.025>.
2. Dagnino-Leone J., Figueroa C.P., Castañeda M.L., Youlton A.D., Vallejos-Almirall A., Agurto-Muñoz A., Pérez J.P., Agurto-Muñoz C. *Computational and Structural Biotechnology Journal*, 2022, vol. 20, pp. 1506–1527. <https://doi.org/10.1016/j.csbj.2022.02.016>.
3. Nguyen A.Q., Mohammadi M., Alian M., Muralitharan G., Chauhan V.S., Balan V. *Biotechnology Advances*, 2024, vol. 77, 108471. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2024.108471>.
4. Stadnichuk I.N. *Fikobiliproteiny. [Phycobiliproteins]*. Moscow, 1990, 196 p. (in Russ.).

\* Corresponding author.

5. Stadnichuk I.N., Tropin I.V. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya*, 2017, vol. 53, no. 1, pp. 5–15. <https://doi.org/10.7868/S0555109917010184>. (in Russ.).
6. Hsieh-Lo M., Castillo G., Ochoa-Becerra M.A., Mojica L. *Algal Research*, 2019, vol. 42, 101600. <https://doi.org/10.1016/J.AL GAL.2019.101600>.
7. Schoeters F., Spit J., Swinnen E., De Cuyper A., Vleugels R., Noyens I., Van Mier S. *Journal of Applied Phycology*, 2023, vol. 35, pp. 2095–2109. <https://doi.org/10.1007/s10811-023-03045-5>.
8. Trenkenshu R.P., Terskov I.A., Sid'ko F.Ya. *Izvestiya Sibirskogo otdeleniya Akademii nauk SSSR. Seriya biologicheskikh nauk*, 1981, vol. 5, no. 1, pp. 75–82. (in Russ.).
9. Khadad R.I., Bagdasaryan S.N., Davidyan T.S., Afrikyan E.K. *Biologicheskiy Zhurnal Armenii*, 1990, vol. 3, no. 43, pp. 235–239. (in Russ.).
10. Lee S.S., Furman J.A. *Applied and Environmental Microbiology*, 1987, vol. 53, no. 6, pp. 1298–1303. <https://doi.org/10.1128/aem.53.6.1298-1303.1987>.
11. Troitskiy A.S., Sorokin Yu.I. *Trudy Instituta biologii vnutrennikh vod*, 1967, no. 15, pp. 85–90. (in Russ.).
12. Borovkov A.B., Gudvilovich I.N., Lelekov A.S., Avsiyan A.L. *Bioresource Technology*, 2023, vol. 374, 128771. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2023.128771>.
13. Patent 2832916 (RU). 2024. (in Russ.).
14. Upitis V.V., Pakalne D.S., Shultse I.F. *Izvestiya AN Latvийской SSR*, 1989, vol. 505, no. 8, pp. 95–104. (in Russ.).
15. Gudvilovich I.N., Borovkov A.B. *International Journal on Algae*, 2014, vol. 16, no. 3, pp. 271–283. <https://doi.org/10.1615/InterJAlgae.v16.i3.70>.
16. Gudvilovich I.N., Borovkov A.B., Trenkenshu R.P. *Sovremennyye tekhnologii produktov pitaniya: sbornik nauchnykh statey materialy 2-y Mezhdunarodnoy nauchno-prakticheskoy konferentsii*. [Modern food technologies: collection of scientific articles, materials of the 2nd International scientific and practical conference]. Kursk, 2015, pp. 44–50. (in Russ.).
17. Fuentes M.M.R., Fernandez G.G.A., Perez J.A.S., Guerrero J.L.G. *Food Chemistry*, 2000, vol. 70, no 3, pp. 345–353. [https://doi.org/10.1016/S0308-8146\(00\)00101-1](https://doi.org/10.1016/S0308-8146(00)00101-1).
18. Trenkenshu R.P., Gudvilovich I.N., Borovkov A.B. *Ekologiya moray*, 2009, no. 79, pp. 44–49. (in Russ.).
19. Los' S.I. *Al'gologiya*, 2008, vol. 18, no. 4, pp. 375–385. (in Russ.).
20. Adjali A., Clarot I., Chen Z., Marchionni E., Boudier A. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 2022, vol. 12, pp. 406–414. doi:10.1016/j.jpha.2021.12.005.
21. Beregovaya N.M. *Ekologiya moray*, 2010, no. 81, pp. 13–16. (in Russ.).
22. Gudvilovich I.N., Borovkov A.B. *Izvestiya vuzov. Prikladnaya khimiya i biotekhnologiya*, 2024, vol. 14, no. 3, pp. 362–370. <https://doi.org/10.21285/achb.927>. (in Russ.).

Received February 28, 2025

Revised April 29, 2025

Accepted May 29, 2025

### Сведения об авторах

Гудвилович Ирина Николаевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, gudirina@ibss.su

Боровков Андрей Борисович – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, spirit2000sev@yandex.ru

Горбунова Светлана Юрьевна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, svetlana\_8423@mail.ru

Рылькова Ольга Александровна – кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, ol.rylkova@yandex.ru

Авсяян Анна Львовна – младший научный сотрудник, anna\_avs@ibss-ras.ru

Новикова Татьяна Михайловна – младший научный сотрудник, novikovat.m@ibss-ras.ru

Андреева Александра Юрьевна – кандидат биологических наук, ведущий научный сотрудник, lab\_eimg@ibss-ras.ru

### Information about authors

Gudvilovich Irina Nikolaevna – Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher, gudirina@ibss.su

Borovkov Andrey Borisovich – Candidate of Biological Sciences, Leading Researcher, spirit2000sev@yandex.ru

Gorbunova Svetlana Yuryevna – Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher, svetlana\_8423@mail.ru

Rylkova Olga Aleksandrovna – Candidate of Biological Sciences, Senior Researcher, ol.rylkova@yandex.ru

Avsyan Anna Lvovna – Junior Researcher, anna\_avs@ibss-ras.ru

Novikova Tatyana Mikhaylovna – Junior Researcher, novikovat.m@ibss-ras.ru

Andreeva Alexandra Yuryevna – Candidate of Biological Sciences, Leading Researcher, lab\_eimg@ibss-ras.ru