

## ПРИМЕНЕНИЕ КУЛЬТУР ХЛОРЕЛЛЫ ОБЫКНОВЕННОЙ В БИОТЕХНОЛОГИИ И ПИЩЕВОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ \*

А.Д. Новокшонова, *Пермский государственный национальный исследовательский университет*  
П.В. Храпцов, *Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН*  
М.Б. Раев, *Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН*

### Для цитирования:

Новокшонова А.Д., Храпцов П.В., Раев М.Б. Применение культур хлореллы обыкновенной в биотехнологии и пищевой промышленности // Вестник Пермского федерального исследовательского центра. – 2023. – № 1. – С. 32–42. <https://doi.org/10.7242/2658-705X/2023.1.4>

Микроводоросли, и в частности *Chlorella vulgaris*, на данный момент являются важнейшими инструментами современного технологического производства различных продуктов и товаров. За последние десятилетия область применения микроводорослей заметно расширилась и нет сомнений, что технологии на основе микроводорослей будут развиваться и находить новые применения. Создание возобновляемого топливного сырья из *C. vulgaris*, по оценкам экспертов, поможет преодолеть экономические и технические проблемы, связанные с сокращением запасов нефти. Большое пространство для улучшения данных технологий остаётся в области поиска новых способов стимулирования как физических (освещение, магнитные поля, температура), так и химических (фитогормоны, удобрения, малые органические молекулы). В этой обзорной работе будут рассмотрены перспективы применения *C. vulgaris* в промышленности, а также способы увеличения ее биомассы и содержания полезных метаболитов.

**Ключевые слова:** хлорелла, биотопливо, фитогормоны, метаболиты.

### Введение

Зеленая одноклеточная водоросль *Chlorella vulgaris* имеет серьезный потенциал промышленного применения, который обусловлен ее способностью к быстрому размножению и накоплению биомассы, содержащей широкий спектр биологически активных соединений: белков, полиненасыщенных жирных кислот, пигментов, витаминов, минералов и олигосахаридов [47]. Для увеличения продуктив-

ности *C. vulgaris* используются различные стимуляторы, которыми служат как химические соединения (например, фитогормоны), так и физические факторы (магнитные поля, освещение и т.д.) [12, 33]. Биостимуляторы позволяют предприятиям, использующим *C. vulgaris*, повысить практический выход представляющих интерес молекул. Особую актуальность создание новых стимуляторов продуктивности *C. vulgaris*

\* Работа выполнена в рамках государственного задания; номер государственной регистрации темы № 122010800029-1.

имеет для производителей биодизеля, удобрений, биогаза, инструментов для очистки сточных вод, восстановления почв [17, 31, 47]. Изготовители продуктов питания, кормов, косметики, товаров для здоровья, также заинтересованы в повышении продуктивности *C. Vulgaris* [1]. Промышленные предприятия, культивирующие *C. vulgaris* в крупных масштабах, испытывают потребность в эффективных способах усиления роста и продуктивности *C. Vulgaris* [14, 47, 49].

В этой обзорной работе рассмотрены перспективы применения *C. vulgaris* в промышленности, а также способы увеличения ее биомассы и содержания полезных метаболитов.

### Общая характеристика *Chlorella vulgaris*

*C. vulgaris* является широко используемым экспериментальным объектом с хорошо изученными морфологическими и физиологическими признаками [3]. В 1890 году Мартинус Бейеринк описал род *Chlorella*, типовым видом которого стала *C. vulgaris*. Определение *C. vulgaris* основывается на секвенировании последовательности 18S рРНК и участка ITS2 ДНК [6, 23].

*C. vulgaris* – космополитический вид, обитающий как в наземной среде, так и водной – пресных и солёных водах. *C. vulgaris* имеет короткий цикл роста, что

делает ее идеальным объектом для биохимических исследований. Помимо этого, ее можно использовать для непосредственного наблюдения реакции новых фитогормонов и химических веществ на клеточном уровне, поскольку восприятие сигнальной молекулы и биохимического ответа происходит в одной и той же клетке в контролируемых условиях [3].

Клетки *C. vulgaris* имеют овально-сферическую форму размером 2–10 мкм, без жгутиков. Органеллы *C. vulgaris* аналогичны органеллам растительных клеток (рис.). В сухой массе клеток содержится до 60% белков, 10–15% углеводов, 12–15% липидов. В онтогенезе клетки накапливают ненасыщенные жирные кислоты, каротиноиды, витамины и различные вторичные метаболиты. Клетка *C. vulgaris* синтезирует большое количество запасных соединений в стрессовых условиях, в частности, при высокой освещенности [6, 22].

*C. vulgaris* – фотоавтотроф. Это значит, что она способна получать энергию для своего развития как посредством фотосинтеза (автотрофный способ), так и в процессе дыхания (гетеротрофный способ), *C. vulgaris* может также объединять два способа получения энергии (миксотрофный способ) [31].

Важной особенностью одноклеточных водорослей и *C. vulgaris* как объекта исследования является способность к

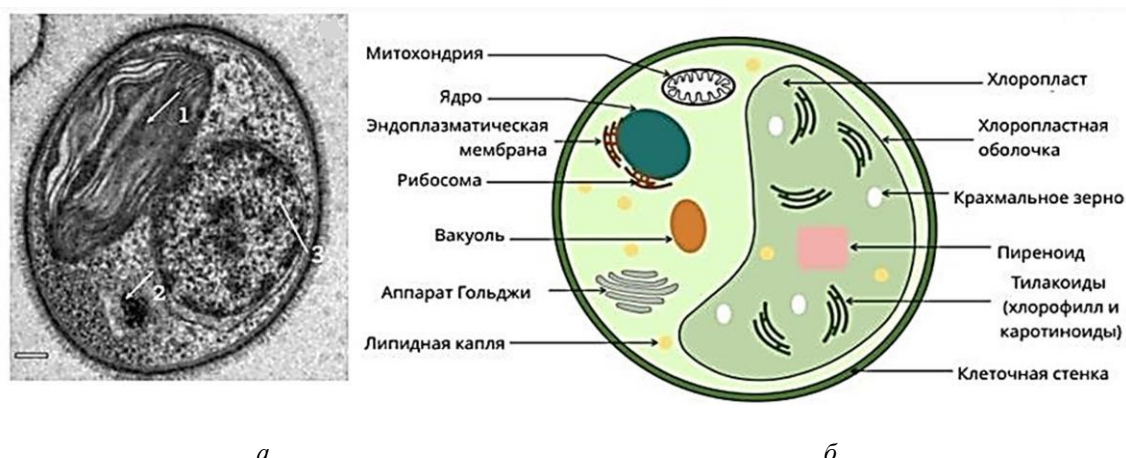


Рис. Изображение *C. Vulgaris*, полученное в просвечивающем электронном микроскопе; длина шкалы 200 нм; 1-хлоропласт, 2-митохондрия, 3-ядро [41] – а; Схема типичного строения клетки *C. vulgaris* [27] – б

синхронизации. При создании определенных условий деление и развитие клеток *C. vulgaris* может происходить с одинаковой периодичностью. Такая *C. vulgaris* представляет собой синхронную культуру [24, 39]. Использование синхронизированных культур уменьшает ошибки в исследовании и позволяет отслеживать влияние исследуемых веществ на различные метаболические пути.

Размножение *C. vulgaris* быстрое – клетки делятся каждые 18–24 ч. Тип размножения – бесполое (агамное) неподвижное. У хлореллы были обнаружены гены, кодирующие мейоз, следовательно, при определённых условиях может происходить половое размножения [23]. Деление клеток состоит из нескольких шагов, которые включают в себя увеличение размеров клеток, формирование внутренней клеточной стенки дочерней клетки, деление хлоропласта на две части, а затем на четыре части, образование и созревание дочерней клеточной стенки [9]. Внутри клетки матери образуются четыре дочерние клетки, имеющие собственную клеточную стенку. После созревания стенка материнской клетки разрушается, высвобождая дочерние клетки и остатки внутренних питательных веществ, которые могут использоваться дочерними клетками.

Клеточные стенки материнской клетки (аутоспорангий) и дочерних клеток (аутоспоры) подвергаются быстрому изменению во время деления. Толщина аутоспор варьируется от нескольких до 20–25 нм. Таким образом, дочерние клетки несут самые тонкие клеточные стенки, в то время как у зрелых клеток самая толстая клеточная стенка. При неблагоприятных условиях *C. vulgaris* образует неподвижную спору с толстой клеточной оболочкой – апланоспору [23, 31].

### Практическое значение *Chlorella vulgaris*

Области применения *C. vulgaris* весьма разнообразны и обширны, её можно использовать в качестве источника альтернативной пищи, корма для животных, биото-

плива, удобрений, косметики, нутрицевтиков и в фармацевтических целях. Ниже подробно рассмотрены основные перспективные области применения *C. vulgaris* и специфические требования, которые предъявляет эта область деятельности к составу биомассы водорослей (табл.).

**Пищевая промышленность.** *C. vulgaris* является источником незаменимых омега-3 жирных кислот, таких как эйкозапентаеновая кислота и докозагексаеновая кислота, которые используются в биотехнологии для замены большого количества используемых животных жиров. Докозагексаеновая кислота, в частности, очень важна для правильного развития тканей головного мозга и сетчатки глаза млекопитающих и позвоночных [40, 45]. Переработанная в пасту или сублимированные кубики *C. vulgaris* используется как добавка в рыбы корма [47].

В последнее время ученые активно изучают полисахариды микроводорослей и их производные на предмет потенциального действия в качестве нового источника пребиотиков, которые будут использоваться для функциональных пищевых продуктов [17]. Функциональные продукты – это целенаправленно разработанные и полученные ингредиенты (часть продукта), оказывающие определенное воздействие на здоровье человека и применяющиеся для профилактики различных заболеваний. Перспективным источником функциональных пищевых продуктов и профилактических препаратов являются микроводоросли, в частности культуры *C. vulgaris*, в связи с высоким содержанием в них жирных кислот, олиго- и полисахаридов, различных белков, веществ с антиоксидантной активностью [16, 17].

**Медицина.** Имеет место медицинское применение экстрагированных из *C. vulgaris* астаксантина для повышения концентрации гемоглобина, β-каротина для снижения уровня сахара в крови, а также глюкана, который может использоваться как гепатопротекторный агент при недоедании [47]. *C. vulgaris* обладает мощными бактерицидными свойствами

Вещества, содержащиеся в биомассе *Chlorella sp.*, имеющие хозяйственное значение

ПЕРВИЧНЫЕ МЕТАБОЛИТЫ		
Группа	Представитель	Использование
Хлорофиллы	Хлорофилл-а	В качестве природных антиоксидантов
	Хлорофилл-в	
Белки и аминокислоты	Микоспориноподобные аминокислоты	Исследуются в качестве противораковых препаратов
Жирные кислоты	Линоленовая, Пальмитолеиновая	Противовоспалительные средства
Сахара	$\beta$ -1,3-глюкан	Иммуностимуляторы, снижающие количество свободных радикалов и уровень холестерина в крови
	Рамноза	Для переработки в биотопливо, производства высокосульфатированных полисахаридов (противовирусные препараты)
	Арабиноза	
	Ксилоза	
	Манноза	
Витамины	Тиамин (В1)	В препаратах для формирования и регенерации клеток крови
	Цианокобаламин (В12)	
	Пиридоксин (В6)	
	Биотин (В7)	
	Ретинол (А)	В косметологии как средство против акне
ВТОРИЧНЫЕ МЕТАБОЛИТЫ		
Группа	Представитель	Использование
Алкалоиды		Для удаления в пищевых добавках свободных радикалов
Флавоноиды		
Жирные кислоты	Олеиновая	В ароматизаторах, эмульгаторах, производстве бумаги
Изопреноиды	Стерол	В качестве природных антиоксидантов
	Фитол	
Каротиноиды (ксантофиллы и каротины)	Астаксантин	Как компонент кормов рыб (лосося)
	Лютеин	В фармацевтике, косметической и пищевой промышленности
	$\alpha$ -каротин	
	$\beta$ -каротин	

благодаря содержанию в ней антибиотика хлореллина и противомикробных соединений [1]. Этот антибиотик оказался эффективным против стрептококков, стафилококков, кишечной палочки и возбудителя туберкулеза [13].

**Косметология.** В косметических средствах, направленных на поддержание регенерации тканей и борьбу с морщинами на коже, используются фенольные кислоты *C. vulgaris*, такие как галловая, кофейная, салициловая, пара-кумаровая и феруловая. Эффекта разглаживания кожи можно достичь за счет добавления синтезируемого *C. vulgaris* коллагена в косметические продукты [47].

**Энергетика.** *C. vulgaris* рассматривается в качестве сырья для производства биодизеля благодаря высокому содержанию в ней липидов и высокой продуктивности биомассы [11, 47]. Для преобразования биомассы *C. vulgaris* в энергию используются термохимические методы, а именно процессы этерификации, пиролиза и газификации. Современные исследования направлены на повышение практического выхода и улучшение качества твердых (уголь), жидких (бионефть) и газообразных (синтез-газ) продуктов, получаемых при термохимической обработке биомассы *C. Vulgaris* [11].

Для производства топлива из микроводорослей используются также процессы переэтерификации молекул липидов биомассы в алкиловые эфиры жирных кислот. В процессе экстрактивной переэтерификации биодизель производится из экстрагированного масла микроводорослей. Хотя микроводоросли обладают самым высоким потенциалом в качестве альтернативного возобновляемого сырья, проблема сокращения затрат на производство биотоплива по-прежнему остается [25].

**Химическое производство.** Активно развивается направление создания биопластика путем преобразования биомассы водорослей при ферментативной обработке и дальнейшей пластификации. Высокое содержание в *Chlorella* sp. углеводов (более 60% сухого веса) позволяет перерабатывать её биомассу в биопластик, состоящий из полимолочной кислоты. Белки, производимые *Chlorella* sp., считаются альтернативным сырьем для производства пластмасс на биологической основе [21, 47].

**Биоремедиация.** *C. vulgaris* способна извлекать неорганический фосфор, азот и углекислый газ из окружающей среды при автотрофном метаболизме. Эту особенность используют для удаления из сточных вод азота и фосфора, что предотвращает развитие патогенных организмов. *C. vulgaris* удаляет 72% азота и 28% фосфора в воде с бытовыми отходами [31].

Разрабатываются технологии использования *Chlorella* sp. в биоремедиации промышленных отходов: токсичных газов, тяжелых металлов, нефтезагрязнителей, красителей в сточных водах. Создаются методы удаления оксида азота и диоксида серы из дымовых газов с использованием *Chlorella* sp.

Экспериментальные данные показывают, что разработанные методы предотвращают выход в атмосферу около 70% оксида азота и около 50% диоксида серы [31, 47].

**Сельское хозяйство.** *C. vulgaris* активно используется как биоудобрение для улучшения химических и биологических

свойств почвы, восстановления её плодородия и стимулирования роста растений. Биоудобрения на основе *C. vulgaris* являются важными компонентами регулируемого процесса минерализации. Такие биоудобрения могут заменить или дополнить используемые в настоящее время дорогостоящие и энергоемкие химические удобрения. Биоудобрения на основе *C. vulgaris* рентабельны и экологически безопасны [15]. Развиваются методы применения сухой *C. vulgaris* как почвенной добавки, влияющей на рост целевых растений. Так, например, при использовании сухой *C. vulgaris* при выращивании кукурузы, наблюдается значительное увеличение количества питательных веществ, потребляемых корнями, увеличение объема корней и образования хлорофилла [47].

#### Методы стимулирования роста *Chlorella vulgaris*

Средняя продуктивность биомассы одноклеточных водорослей, о которой сообщается в литературе, для обычной промышленной системы открытых прудов находится в диапазоне 8,5–21 г/м<sup>2</sup> за один день. Это соответствует приблизительно от 18 до 36 т/га сухого сырья в год. Увеличение продуктивности водорослей с 21 г/м<sup>2</sup> за один день до более высокого уровня может снизить стоимость производства биомассы и повысить экономическую эффективность производства биомассы из водорослей [5]. Это, в свою очередь, откроет новые возможности использования микроводорослей, и в частности *C. vulgaris* для создания предприятий с высокой прибылью, а также позволит удешевить разрабатываемые технологии получения биотоплива.

Растительные гормоны и их синтетические аналоги рассматриваются как потенциальные инструменты для повышения скорости роста и производства биомассы водорослей.

**Ауксины** – это группа растительных гормонов. Природные ауксины являются производными индола: индол-3-уксусная кислота, индол-3-масляная кислота, индол-3-пропионовая кислота и др.

Считалось, что ауксины синтезируются в основном в быстрорастущих частях стеблевых растений и вызывают удлинение клеток побегов [37, 43]. Однако некоторые ауксины были обнаружены у цианобактерий с помощью иммуноферментного анализа. Затем были обнаружены индол-3-уксусная кислота, индол-3-масляная кислота, индол-3-пропионовая кислота и индол-3-ацетамид у 46 видов микроводорослей, относящихся к отряду *Chlorophyta* [37]. Так же были охарактеризованы эндогенные ауксины *Chlorella* sp. при культивировании в различных условиях [32, 43].

Было замечено, что добавление в культуру цианобактерий предшественников ауксинов способствовало накоплению индол-3-уксусной кислоты в этих клетках [28, 43]. Добавление в культуральную среду экзогенных ауксинов способствует росту одноклеточных микроводорослей, в том числе *C. vulgaris* [28].

Индол-3-уксусная кислота является наиболее изучаемым и широко используемым ауксином, показано, что при добавлении её в культуру *C. vulgaris* в концентрации 1 мг/л повышается продуцирование линоленовой кислоты на 12,67%, эйкозапентаеновой кислоты 23,25% и докозагексаеновой кислоты на 26,11% по сравнению с контролем [40]. Индол-3-уксусная кислота в концентрации  $10^{-5}$  М усиливала рост *Scenedesmus obliquus* в 1,9 раза по сравнению с контролем [48]. При недостатке азота в культуральной среде индол-3-уксусная кислота способствовала увеличению роста микроводорослей [41].

Индол-3-уксусная кислота, вырабатываемая клетками микроводорослей, при действии стрессовых агентов способна ослаблять ингибирующее действие стрессовых факторов, подавляющих рост культур микроводорослей [27, 42]. Индол-3-уксусная кислота усиливала способность *C. vulgaris* фиксировать  $CO_2$  в условиях ртутного стресса, она также способна индуцировать биосинтез жирных кислот и стимулировать выработку водорастворимых белков, моносахаридов и хлорофил-

лов в клетках *C. pyrenoidosa* и *C. vulgaris* [21, 27]. При добавлении в культуру *C. vulgaris* индол-3-уксусной кислоты в концентрации 0,1 мкМ наблюдалось значительное увеличение содержания белка после культивирования 48 ч [4, 36].

Индол-3-масляная кислота вырабатывается в клетках микроводорослей в ответ на различные стрессы, но не оказывает влияние на содержание липидов в клетке [29, 42]. В концентрации 10 и 100 мкМ индол-3-масляная кислота увеличивала накопление биомассы у сине-зелёных водорослей рода *Nostoc* sp. Низкие концентрации (0,01; 0,1; 1 мкМ) оказывали стимулирующее действие на накопление хлорофилла и ряда каротиноидов [30]. Внесение индол-3-масляной кислоты в питательные среды *C. pyrenoidosa* и *C. vulgaris* увеличивало содержание хлорофилла, каротиноидов, альдогексоз и водорастворимых белков [4, 36].

Индол-3-пропионовая кислота может оказывать существенное влияние на продукцию липидов микроводорослями и рост клеток [28]. Исследования показывают, что индол-3-пропионовая кислота наравне с индол-3-уксусной кислотой оказывает наибольшее влияние на рост клеток и продукцию липидов микроводорослями [28]. При добавлении индол-3-пропионовой кислоты к культурам *C. vulgaris* и *S. obliquus* наблюдалось улучшение продукции липидов [4, 28].

Установлено, что нафтилуксусная кислота повышает концентрацию индол-3-уксусной кислоты в клетках микроводорослей [28, 35]. Ранее нафтилуксусная кислота была идентифицирована как более эффективный стимулятор по сравнению с природными ауксинами [20, 21]. Однако существуют работы, в которых показано, что различные концентрации нафтилуксусной кислоты не увеличивают биомассу водорослей или содержание липидов; это можно объяснить наличием токсинов или ингибиторов, высвобождаемых клетками водорослей в среду с нафтилуксусной кислотой и её блокированием [28, 29].

Природные и синтетические ауксины снижают накопление активных форм кислорода, таких как перекись водорода, в клетках *C. vulgaris* после 48 ч культивирования [4, 36]. Активные формы кислорода накапливаются при световых, тепловых, химических стрессах, при этом повреждая генетический материал и различные структуры клеток [44].

Таким образом, ауксины обладают стимулирующим эффектом на продуцирование *C. vulgaris* жизненно важных для неё первичных метаболитов, таких как пигменты, жирные кислоты и полисахариды. Выявлен стимулирующий эффект ауксинов на содержание липидов, липидную продуктивность и скорость роста [35].

**Брассиностероиды** являются гидроксильрованными производными холестерина. Брассиностероиды играют важную роль в биосинтезе этилена, гиперполяризации мембран, увеличении синтеза ДНК, РНК и белков, повышении активности инвертазы, стимуляции фотосинтетической активности и изменение баланса других эндогенных фитогормонов [3, 4, 8]. Брассиностероиды могут минимизировать ингибирующее действие теплового стресса на культуры *C. vulgaris*, запуская в их клетках выработку этилена и абсцизовой кислоты [4, 28].

Показано синергическое влияние брассиностероидов и природных ауксинов на культуры *C. vulgaris*. Одновременное добавление брассиностероидов и ауксинов в питательные среды способствовало росту водорослей и накоплению в них метаболитов, причём содержание метаболитов было намного больше в сравнении с добавлением в среду только ауксина или брассиностероида [4].

**Цитокинины (ЦК)** – производные аденина и аденозина [2]. В тканях растений преобладающей формой цитокининов является зеатин, он может существовать в цис- или транс-конфигурации. Транс-зеатин служит наиболее активной и широко распространенной изоформой [19, 46]. Цитокинины играют роль во многих физиологических процессах рас-

тений, включая стимуляцию клеточного деления, дифференцировки и роста, дифференцировки хлоропластов [34].

Было обнаружено, что цитокинины играют ключевую роль в биологических процессах микроводорослей, включая индукцию клеточного деления, стимуляцию процессов роста и усиление фотосинтетической активности. В неблагоприятных условиях цитокинины микроводорослей оказывают защитное действие на физиологическую активность, особенно на фотосинтез [38].

Экзогенные цитокинины могут защищать функциональные белки и системы фотосинтеза и значительно снижают повреждение тяжелыми металлами *C. vulgaris* и *Acutodesmus obliquus*. Когда клетки водорослей подвергаются стрессу кадмием, медью или свинцом, цитокинины также уменьшают токсичность тяжелых металлов, ингибируя образование активных форм кислорода [44].

**Гиббереллины** были обнаружены при изучении грибных аскомицетов *Gibberella fujikuroi*, паразитирующих на растениях риса [18].

Большинство гиббереллинов представляют собой кислоты, обозначаемые аббревиатурой ГК (GA), за которой следует число, соответствующее порядку открытия гиббереллина. Наиболее активными формами являются GA1, GA3, GA4, GA5, GA6 и GA7. Установлено, что гиббереллины в основном участвуют в удлинении и расширении клеток, но не в их делении [38].

Функции гиббереллинов микроводорослей физиологически сходны с функциями высших растений. Добавленные в среду экзогенные гиббереллины значительно сокращают лаг-фазу и активируют рост клеток в лаг-фазе. Было высказано предположение, что GA3 положительно влияет на рост и повышает адаптивную способность к неблагоприятным условиям окружающей среды. Гиббереллины 4, 25, 8 и 15 стимулируют накопление пигментов и белков, снижают токсичность тяжелых металлов в культуре микроводорослей [18].

Добавление гиббереллина к культурам *C. vulgaris* снижает ингибирующее действие кадмия и свинца за счет активации накопления белка, фотосинтетических пигментов и моносахаридов, имеющих антиоксидантную активность [44].

Таким образом, основные используемые растительные гормоны и их синтетические аналоги активно влияют на накопление первичных метаболитов, рост и развитие клетки, адаптацию к стрессовым условиям и окружающей среде. Но пока среди фитогормонов не найдено стимуляторов, значительно повышающих синтез вторичных метаболитов: антибиотиков, пигментов, флавоноидов, алколоидов.

Помимо растительных гормонов исследуются модификации условий культивирования за счёт использования физических факторов, а именно магнитных полей, освещения и электрического стимулирования.

**Статические магнитные поля** влияют на метаболизм некоторых микроорганизмов, есть сообщения о том, что они могут ускорять рост. Недавно было предложено использование данного метода стимулирования для увеличения биомассы микроводорослей и повышения выхода ценных биомолекул, таких как полисахариды [10, 12].

При воздействии статических магнитных полей на культуры *C. fusca* и *C. vulgaris* увеличивается содержание полисахаридов в клетке. Использование статических магнитных полей с сочетанием различных стрессов, например азотным голоданием, может усиливать накопление крахмала в клетках *C. vulgaris* и *C. fusca*, что важно для использования данных водорослей в качестве сырья при производстве биоэтанола [12].

**Освещение** является важным условием культивирования микроводорослей, которое влияет на продуктивность фотосинтеза. В различных исследованиях упоминается увеличение выхода микроводорослей, а также сокращение времени культивирования при использовании в

освещении длин волн, соответствующих спектру поглощения хлорофиллов водорослей. Красный (600–700 нм) и синий (400–500 нм) свет стимулируют развитие микроводорослей, причем скорость роста и содержание липидов изменяются при различных интенсивностях света [33, 26].

Искусственные источники освещения позволяют управлять спектральной структурой света, что позволяет выбирать наиболее эффективные условия освещения при культивировании. В этом случае появляется возможность получить высокие показатели биосинтеза ценных веществ, входящих в состав *C. vulgaris*, а также повысить рост культуры [33].

**Электрическая стимуляция** может использоваться для быстрой индукции накопления триацилглицеринов и полиненасыщенных жирных кислот у *Chlorella* sp. Установлено, что при прикладывании катодного тока 31 мА (напряжение: 4 В) к клеткам микроводорослей в течение 4 ч содержание триацилглицеринов в электрообработанных клетках может повышаться в 2,1 раза по сравнению с необработанным контролем. Содержание полиненасыщенных линолевой и линоленовой кислот в электрообработанных клетках также было на 36 и 57% выше, чем в необработанных, соответственно. Циклическая вольтамперометрия и различные биохимические анализы показывают, что электростимулирование приводит к образованию триацилглицеринов и жирных кислот посредством биосинтеза жирных кислот и метаболической трансформации в организме [7].

Физическое стимулирование в большинстве случаев способствует увеличению содержания полисахаридов и жирных кислот в биомассе. Однако использование физических методов стимулирования весьма ограничено объемами культивирования. Данные методы наиболее эффективны при культивировании микроводорослей в биореакторах и не подходят для культивирования в больших открытых системах.



Библиографический список

1. *Abdul Fattah S., Nazlina Haiza M.Y.* Unveiling antimicrobial activity of microalgae *Chlorella sorokiniana* (UKM2), *Chlorella* sp. (UKM8) and *Scenedesmus* sp. (UKM9) // Saudi journal of biological sciences. – 2022. – Vol. 29. – № 2. – P. 1043–1052.
2. *Amasino R.* Kinetin arrives: the 50<sup>th</sup> anniversary of a new plant hormone // Plant physiology. – 2005. – Vol. 138. – № 3. – P. 1177–1184.
3. *Bajguz A., Hayat S.* Effects of brassinosteroids on plant responses to environmental stresses // Plant Physiology and Biochemistry. – 2009. – Vol. 47. – № 1. – P. 1–8.
4. *Bajguz A., Piotrowska-Niczyporuk A.* Synergistic effect of auxins and brassinosteroids on the growth and regulation of metabolite content in the green alga *Chlorella vulgaris* (Trebouxiophyceae) // Plant Physiology and Biochemistry. – 2013. – Vol. 71. – P. 290–297.
5. *Benemann J.R., Oswald W.J.* Systems and economic analysis of microalgae ponds for conversion of carbon dioxide to biomass // Pittsburgh Energy Technology Center. – 1996. – Vol. 1. – P. 1–11.
6. *Champerois J.M.* Review of the taxonomic revision of *Chlorella* and consequences for its food uses in Europe // Journal of Applied Phycology. – 2015. – Vol. 27. – № 5. – P. 1845–1851.
7. *Choi S., Lee S.Y., Lee J., Cho J.M., Jin-Suk Lee.* Rapid induction of edible lipids in *Chlorella* by mild electric stimulation // Bioresource Technology. – 2019. – Vol. 292. – P. 121–950.
8. *Choudhary S.P., Yu Y.Q., Yamaguchi-Shinozaki, Shinozaki K.,* Benefits of brassinosteroid cross talk // Trends in Plant Science. – 2012. – Vol. 10. – № 10. – P. 594–605.
9. *Coronado-Reyes J.A., Salazar-Torres J., Juárez-Campos B., González Hernández J.C.* *Chlorella vulgaris*, a microalgae important to be used in Biotechnology: a review // Food Science and Technology. – 2020. – Vol. 42. – P. 320–370.
10. *Costa S.S., Peres B.P., Machado B.R., Costa J.A.V., Santos L.O.* Increased lipid synthesis in the culture of *Chlorella homosphaera* with magnetic fields application // Bioresource Technology. – 2020. – Vol. 315. – P. 123–880.
11. *Das P., Chandramohan V.P., Mathimani T.* Recent advances in thermochemical methods for the conversion of algal biomass to energy // Science of The Total Environment. – 2021. – Vol. 766. – P. 144–608.
12. *Deamici K.M., Cardias B.B., Costa J.A.V., Santos L.O.* Static magnetic fields in culture of *Chlorella fusca*: Bioeffects on growth and biomass composition // Process Biochemistry. – 2016. – Vol. 51. – № 7. – P. 912–916.
13. *Dineshkumar R., Rajendran N., Jayasingam P. Sampathkumar P.* Cultivation and chemical composition of microalgae *Chlorella vulgaris* and its antibacterial activity against human pathogens // Journal of Aquaculture & Marine Biology. – 2017. – Vol. 5. – P. 1–19.
14. *Dragone G.* Challenges and opportunities to increase economic feasibility and sustainability of mixotrophic cultivation of green microalgae of the genus *Chlorella* sp. // Renewable and Sustainable Energy Reviews. – 2022. – Vol. 160. – P. 112–284.
15. *Esráa E.A., Aioub A.A., Elesawy A.E.* Algae as bio-fertilizers: between current situation and future prospective // Saudi Journal of Biological Sciences. – 2022. – Vol. 29. – № 5. – P. 3083–3096.
16. *Ferrazzano G.F., Papa C., Pollio A., Ingenito A. Sangianantoni G., Cantile T.,* Cyanobacteria and microalgae as sources of functional foods to improve human general and oral health // Molecules. – 2020. – Vol. 25. – № 21. – P. 51–64.
17. *Gouda M., Tadda M.A., Zhao Y.* Microalgae bioactive carbohydrates as a novel sustainable and eco-friendly source of prebiotics: Emerging health functionality and recent technologies for extraction and detection // Frontiers in Nutrition. – 2022. – Vol. 9. – P. 692–806.
18. *Han X., Zeng H., Bartocci P., Fantozzi F., Yan Y.* Phytohormones and effects on growth and metabolites of microalgae: a review // Fermentation. – 2018. – Vol. 4. – № 2. – P. 25–25.
19. *Hirose N., Takei K., Kuroha T., Kamada-Nobusada T., Hayashi H., Sakakibara H.* Regulation of cytokinin biosynthesis, compartmentalization and translocation // Journal of Experimental Botany. – 2007. – Vol. 59. – № 1. – P. 75–83.47.
20. *Hunt R.W., Chinnasamy S., Das K.C.* Recent advances in thermochemical methods for the conversion of algal biomass to energy // Science of The Total Environment. – 2021. – Vol. 766. – P. 144–160.
21. *Hunt R.W., Chinnasamy S., Das K.C.* The effect of naphthalene-acetic acid on biomass productivity and chlorophyll content of green algae, Coccolithophore, Diatom, and Cyanobacterium cultures // Applied Biochemistry and Biotechnology. – 2011. – Vol. 164. – P. 1350–1365.
22. *Huss V.A., Carola F.* Biochemical taxonomy and molecular phylogeny of the genus *Chlorella* sensu lato (Chlorophyta) // Journal of Phycology. – 1999. – Vol. 35. – № 3. – P. 587–598.
23. *Ibrahim I., Elbialy Z.* A review: Importance of *Chlorella* sp. and different applications // Alexandria Journal of Veterinary Sciences. – 2020. – Vol. 65. – № 1. – P. 16–16.

24. Iversen P.W., Eastwood B.J., Sittampalam G.S., Cox K.L. A comparison of assay performance measures in screening assays: signal window, Z'-factor, and assay variability ratio // *SLAS Discovery*. – 2006. – Vol. 11. – № 3. – P. 247–252.
25. Karpagam R., Jawaharraj K., Gnanam R. Review on integrated biofuel production from microalgal biomass through the outset of transesterification route: a cascade approach for sustainable bioenergy // *Science of The Total Environment*. – 2021. – Vol. 766. – P. 144–236.
26. Khalili A., Najafpour G.D., Amini G. Influence of nutrients and LED light intensities on biomass production of microalgae *Chlorella vulgaris* // *Biotechnology and Bioprocess Engineering*. – 2015. – Vol. 20. – № 2. – P. 284–290.
27. Kong W., Kong J., Lyu H. Application of indole-3-acetic acid in microalgae cultivation to improve the feasibility of simultaneously purifying wastewater, fixing CO<sub>2</sub> and producing fatty acids under Hg stress // *Journal of Cleaner Production*. – 2022. – Vol. 358. – P. 28–132.
28. Liu J., Qiu W. Stimulatory effect of auxins on the growth and lipid productivity of *Chlorella pyrenoidosa* and *Scenedesmus quadricauda* // *Algal Research*. – 2016. – Vol. 18. – P. 273–280.
29. Liu J., Song Y. Optimization of growth conditions toward two-stage cultivation for lipid production of *Chlorella vulgaris* // *Environmental Progress & Sustainable Energy*. – 2015. – Vol. 34. – № 6. – P. 1801–1807.
30. Mansouri H., Talebizadeh R. Effects of indole-3-butyric acid on growth, pigments and UV-screening compounds in *Nostoc linckia* // *Phycological Research*. – 2017. – Vol. 65. – № 3. – P. 212–216.
31. Masojídek J., Torzillo G. Mass cultivation of freshwater microalgae // Reference Module in Earth Systems and Environmental Sciences. – 2014. – P. 2226–2235.
32. Mateusz M., Stéphanie R. The role of auxin in Cell wall expansion // *International journal of molecular sciences*. – 2018. – Vol. 19. – № 4. – P. 951–951.
33. Metsoviti M.N., Papapolymerou G. Effect of light intensity and quality on growth rate and composition of *Chlorella vulgaris* // *Plants (Basel, Switzerland)*. – 2019. – Vol. 9. – № 1. – P. 31–31.
34. Mok D.W., Mok M.C. Cytokinin metabolism and action // *Annual review of plant physiology and plant molecular biology*. – 2001. – Vol. 52. – № 1. – P. 89–118.
35. Parsaeimehr A., Mancera-Andrade E.I., Robledo-Padilla F., Iqbal H.M., Parra-Saldivar R. A chemical approach to manipulate the algal growth, lipid content and high-value alpha-linolenic acid for biodiesel production // *Algal Research*. – 2017. – Vol. 26. – P. 312–322.
36. Piotrowska-Niczyporuk A., Bajguz A. The effect of natural and synthetic auxins on the growth, metabolite content and antioxidant response of green alga *Chlorella vulgaris* (Trebouxiophyceae) // *Plant Growth Regulation*. – 2014. – Vol. 73. – № 1. – P. 57–66.
37. Romanenko E.A., Kosakovskaya I.V. Phytohormones of microalgae: biological role and involvement in the regulation of physiological processes, Pt I. Auxins, Abscisic Acid, Ethylene // *International Journal on Algae*. – 2015. – Vol. 17. – № 3. – P. 275–289.
38. Romanenko K.O., Kosakovskaya I.V., Romanenko P.O. Phytohormones of microalgae: Biological role and involvement in the regulation of physiological processes, Pt II. Cytokinins and Gibberellins // *International Journal on Algae*. – 2016. – Vol. 18. – P. 179–201.
39. Sandberg M., Määttänen A., Peltonen J., Vuorela P.M., Fallarero A. Automating a 96-well microtitre plate model for *Staphylococcus aureus* biofilms: an approach to screening of natural antimicrobial compounds // *International Journal of Antimicrobial Agents*. – 2008. – Vol. 32. – № 3. – P. 233–240.
40. Sivaramkrishnan R., Incharoensakdi A. Plant hormone induced enrichment of *Chlorella* sp. omega-3 fatty acids // *Biotechnology for biofuels*. – 2020. – Vol. 13. – № 1. <https://doi.org/10.1186/s13068-019-1647-9>.
41. Stirk W.A., Tarkowská D., Turečová V., Strnad M. Abscisic acid, gibberellins and brassinosteroids in Kelpak, a commercial seaweed extract made from *Ecklonia maxima* // *Journal of Applied Phycology*. – 2014. – Vol. 26. – № 1. – P. 561–567.
42. Subhash V., Rohit M.V., Devi M.P., Swamy Y.V. Temperature induced stress influence on biodiesel productivity during mixotrophic microalgae cultivation with wastewater // *Bioresource Technology*. – 2014. – Vol. 169. – P. 789–793.
43. Thi C., Dang T. Characterization of endogenous auxins and gibberellins produced by *Chlorella sorokiniana* (TH01) under phototrophic and mixotrophic cultivation modes toward applications in microalgal biorefinery and crop research // *Journal of Chemistry*. – 2020. – Vol. 4. – P. 1–11.
44. Wang C., Qi M., Guo J., Zhou C., Yan X. The Active Phytohormone in Microalgae: The characteristics, efficient detection, and their adversity resistance Applications // *Molecules*. – 2022. – Vol. 27. – № 1. – P. 46–46.
45. Wase N., Tu B., Allen J.W., Black P.N., DiRusso C.C. Identification and metabolite profiling of chemical activators of lipid accumulation in green algae // *Plant Physiology*. – 2017. – Vol. 174. – № 4. – P. 2146–2165.

46. Werner T., Schmölling T. Cytokinin action in plant development // Current Opinion in Plant Biology. – 2009. – Vol. 12. – № 5. – P. 527–538.
47. Wilson G. Microalgae for biotechnological applications: Cultivation, harvesting and biomass processing // Aquaculture. – 2020. – Vol. 528. – P. 562–735.
48. Wood E., Wingard L., Andersen R. Measuring growth rates in microalgal cultures // Algal Culturing Techniques. 2005.
49. Ziganshina E.E., Bulynina S.S., Ziganshin A.M. Growth characteristics of *Chlorella sorokiniana* in a photobioreactor during the utilization of different forms of nitrogen at various temperatures // Plants. – 2022. – Vol. 11. – № 8. – P. 10–86.

## APPLICATION OF CHLORELLA VULGARIS CULTURES IN BIOTECHNOLOGY AND FOOD INDUSTRY

Novokshonova A.D.<sup>1</sup>, Khramtsov P.V.<sup>2</sup>, Rayev M.B.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Perm State University

<sup>2</sup> Institute of Ecology and Genetics of Microorganisms UB RAS

---

### For citation:

Novokshonova A.D., Khramtsov P.V., Rayev M.B. Application of *Chlorella vulgaris* cultures in biotechnology and food industry // Perm Federal Research Center Journal. – 2023. – № 1. – P. 32–42. <https://doi.org/10.7242/2658-705X/2023.1.4>

---

Microalgae, in particular *Chlorella vulgaris*, are currently the most important tools for modern technological production of various products and goods. Over the past decades, the field of application of microalgae has significantly expanded and there is no doubt that microalgae-based technologies will develop and find new applications. The creation of renewable fuel feedstock from *Chlorella vulgaris* is estimated to help overcome the economic and technical problems associated with declining oil reserves. Much room for improvement of these technologies remains in the search for new ways to stimulate both physical (lighting, magnetic fields, temperature) and chemical (phytohormones, fertilizers, small organic molecules). This review paper will look into the prospects for industrial applications of *Chlorella vulgaris*, as well as ways to increase its biomass and beneficial metabolite content.

*Keywords: Chlorella, biodiesel, phytohormones, metabolites.*

### Сведения об авторах

Новокишоновна Анастасия Денисовна, студентка, Пермский государственный национальный исследовательский университет (ПГНИУ), 614990, Пермь, ул. Букирева, 15; e-mail: anast218bio@gmail.com

Храмцов Павел Викторович, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник, Институт экологии и генетики микроорганизмов УрО РАН–филиал Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН («ИЭГМ УрО РАН»), 614081, г. Пермь, ул. Голева, д. 13; e-mail: khramtsov Pavel@yandex.ru

Раев Михаил Борисович, доктор биологических наук, ведущий научный сотрудник, «ИЭГМ УрО РАН»; e-mail: mraev@iegm.ru

*Материал поступил в редакцию 31.01.2023 г.*