

DOI: <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-2-202-210>

Поступила 23.03.2023

Поступила после рецензирования 13.06.2023

Принята в печать 19.06.2023

© Сухих С. А., Долганюк В. Ф., Кремлева О. Е., Ульрих Е. В., Каширских Е. В., Бабич О. О., 2023

<https://www.fsjour.com/jour>

Научная статья

Open access

ИЗУЧЕНИЕ ПАРАМЕТРОВ ЭКСТРАКЦИИ, КОЛИЧЕСТВЕННОГО ВЫХОДА ПОЛИСАХАРИДОВ И АНТИОКСИДАНТНОЙ АКТИВНОСТИ ПСИХРОФИЛЬНЫХ МИКРОВОДОРОСЛЕЙ И ЦИАНОБАКТЕРИЙ

Сухих С. А.¹, Долганюк В. Ф.^{1,2}, Кремлева О. Е.³, Ульрих Е. В.^{4*},
Каширских Е. В.¹, Бабич О. О.¹

¹ Балтийский федеральный университет им. И. Канта, Калининград, Россия

² Кемеровский государственный университет, Кемерово, Россия

³ Гродненский государственный университет имени Янки Купалы, Гродно, Республика Беларусь

⁴ Калининградский государственный технический университет, Калининград, Россия

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА:

микроводоросли,
цианобактерии,
антиоксидантный комплекс,
ультразвук, биомасса,
свободные радикалы

АННОТАЦИЯ

Экзополисахариды и эндополисахариды являются основными составляющими антиоксидантного комплекса психрофильных микроводорослей и цианобактерий. Для извлечения данных соединений из клетки требуются высокие затраты энергии или большое количество химических веществ из-за неподатливости, сложности и разнообразия клеточной стенки микроводорослей. Целью данной работы являлось изучение количественного выхода полисахаридов в зависимости от мощности ультразвука и продолжительности экстракции, а также определение антиоксидантной активности антиоксидантного комплекса психрофильных микроводорослей и цианобактерий. Для выявления антиоксидантных свойств комплексов, полученных из биомассы микроскопических водорослей, использовали метод, основанный на измерении оптической плотности (в жидкой питательной среде), метод определения антиоксидантной активности исследуемых образцов по их способности восстанавливать свободные радикалы. В результате проведенных исследований установлены рациональные условия экстракции антиоксидантного комплекса из культуральной жидкости и связанных с клетками психрофильных микроводорослей и цианобактерий *Skeletonema pseudocostatum*, *Thalassiosira pseudonana*, *Fragilariopsis kerguelensis*, *Aphanizomenon gracile* и *Anabaena cylindrica*. Установлено, что для экстракции экзополисахаридов психрофильных микроводорослей и цианобактерий *Skeletonema pseudocostatum*, *Thalassiosira pseudonana*, *Fragilariopsis kerguelensis*, *Aphanizomenon gracile* и *Anabaena cylindrica* используется этанольная экстракция с модулем экстракции 1:2 и температурой экстракции 5 °С. Изучена способность психрофильных микроводорослей и цианобактерий *Skeletonema pseudocostatum*, *Thalassiosira pseudonana*, *Fragilariopsis kerguelensis*, *Aphanizomenon gracile* и *Anabaena cylindrica* продуцировать антиоксидантный комплекс. Установлено, что в состав данного комплекса входят полисахариды: эндо- и экзополисахариды. Способность психрофильных микроводорослей и цианобактерий *Skeletonema pseudocostatum*, *Thalassiosira pseudonana*, *Fragilariopsis kerguelensis*, *Aphanizomenon gracile* и *Anabaena cylindrica* продуцировать антиоксидантный комплекс доказана наличием значительной антиоксидантной активности психрофильных микроводорослей и цианобактерий, определенной методами ABTS, DPPH и FRAP. Наибольшей антиоксидантной активностью обладает психрофильная микроводоросль *Skeletonema pseudocostatum*. Наличие антиоксидантных свойств у психрофильных микроводорослей и цианобактерий открывает перспективы их использования в практических целях.

ФИНАНСИРОВАНИЕ: Работа выполнена при финансовой поддержке Министерства науки и Высшего образования Российской Федерации (грант Президента Российской Федерации), проект № МК-484.2022.1.4 (соглашение № 075–15–2022–393).

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Сухих, С. А., Долганюк, В. Ф., Кремлева, О. Е., Ульрих, Е. В., Каширских, Е. В., Бабич, О. О. (2023). Изучение параметров экстракции, количественного выхода полисахаридов и антиоксидантной активности психрофильных микроводорослей и цианобактерий. *Пищевые системы*, 6(2), 202–210. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-2-202-210>

FOR CITATION: Sukhikh, S. A., Dolganyuk, V. F., Kremleva, O. E., Ulrikh, E. V., Kashirskikh, E. V., Babich, O. O. (2023). Study of extraction parameters, quantitative yield of polysaccharides and the antioxidant activity of psychrophilic microalgae and cyanobacteria. *Food Systems*, 6(2), 202–210. <https://doi.org/10.21323/2618-9771-2023-6-2-202-210>

Received 23.03.2023

Accepted in revised 13.06.2023

Accepted for publication 19.06.2023

© Sukhikh S. A., Dolganyuk V. F., Kremleva O. E., Ulrikh E. V., Kashirskikh E. V., Babich O. O., 2023

Available online at <https://www.fsjour.com/jour>

Original scientific article

Open access

STUDY OF EXTRACTION PARAMETERS, QUANTITATIVE YIELD OF POLYSACCHARIDES AND THE ANTIOXIDANT ACTIVITY OF PSYCHROPHILIC MICROALGAE AND CYANOBACTERIA

Stanislav A. Sukhikh¹, Vyacheslav F. Dolganyuk^{1,2}, Olga E. Kremleva³, Elena V. Ulrikh^{4,*}, Egor V. Kashirskikh¹, Olga O. Babich¹

¹ Baltic Federal University I. Kant, Kaliningrad, Russia

² Kemerovo State University, Kemerovo, Russia

³ Yanka Kupala State University of Grodno, Grodno, Belarus

⁴ Kaliningrad State Technical University, Kaliningrad, Russia

KEY WORDS:

microalgae, cyanobacteria, antioxidant complex, ultrasound, biomass, free radicals

ABSTRACT

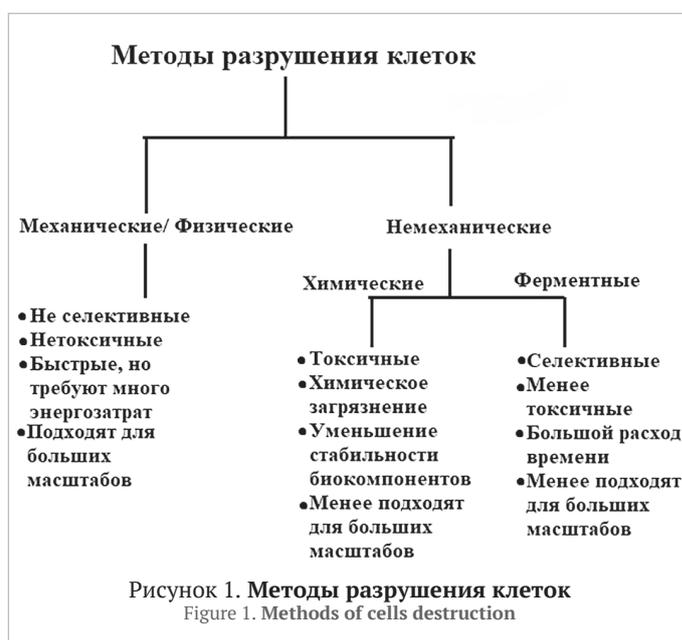
Exopolysaccharides and endopolysaccharides are the main components in the antioxidant complex of psychrophilic microalgae and cyanobacteria. The extraction of these compounds from the cells is really energy consuming, as well as it requires large doses of chemicals due to the resilience, recalcitrance, complexity and diversity of the cell wall in microalgae. The purpose of this article was to study the dependence of polysaccharides quantitative yield on the power of ultrasound treatment and duration of their extraction, as well as to determine the antioxidant activity of the antioxidant complex of psychrophilic microalgae and cyanobacteria. In order to find and confirm the antioxidant properties of the complexes obtained from the microscopic algae biomass, we used the method based on measuring the optical density (in a liquid nutrient medium), i. e. the method for determining the antioxidant activity of the samples under research by their ability to reduce the level of free radicals. As a result of the studies the rational conditions were found for the extraction of the antioxidant complex from the cell culture fluid, and from the cell-related psychrophilic microalgae and cyanobacteria *Skeletonema pseudocostatum*, *Thalassiosira pseudonana*, *Fragilariopsis kerguelensis*, *Aphanizomenon gracile*, and *Anabaena cylindrica*. For the exopolysaccharides extraction from the psychrophilic microalgae and cyanobacteria *Skeletonema pseudocostatum*, *Thalassiosira pseudonana*, *Fragilariopsis kerguelensis*, *Aphanizomenon gracile* and *Anabaena cylindrica*, the method of ethanol extraction with an extraction module of 1:2 and an extraction temperature of 5 °C was used. The ability of psychrophilic microalgae and cyanobacteria *Skeletonema pseudocostatum*, *Thalassiosira pseudonana*, *Fragilariopsis kerguelensis*, *Aphanizomenon gracile* and *Anabaena cylindrica* to produce an antioxidant complex was studied. It was found that this complex contains polysaccharides and exopolysaccharides in particular. The ability of psychrophilic microalgae and cyanobacteria *Skeletonema pseudocostatum*, *Thalassiosira pseudonana*, *Fragilariopsis kerguelensis*, *Aphanizomenon gracile*, and *Anabaena cylindrica* to produce an antioxidant complex was proven by the presence of significant antioxidant activity of psychrophilic microalgae and cyanobacteria, determined and confirmed by the methods ABTS, DPPH, and FRAP. The psychrophilic microalga *Skeletonema pseudocostatum* possesses the highest antioxidant activity. The availability of antioxidant properties in psychrophilic microalgae and cyanobacteria opens up the prospects for their practical application.

FUNDING: The work was supported financially by the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (grant of the President of the Russian Federation), project no. MK-484.2022.1.4 (agreement No. 075–15–2022–393).

1. Введение

Основное содержание антиоксидантного комплекса (АК) психрофильных микроводорослей и цианобактерий заключено в клеточной стенке [1]. Нарушение клеточной стенки является ключевым фактором для реализации АК [2]. Для извлечения соединений из клетки требуются высокие затраты энергии или большое количество химических веществ из-за неподатливости, сложности и разнообразия клеточной стенки микроводорослей [3]. Для разрушения клеток микроводорослей используются механические, физические и немеханические методы, которые применяются для разрушения или дезинтеграции клеточной мембраны. Это повышает выход желаемого компонента (например полисахаридов), который может быть извлечен из биомассы [4]. На Рисунке 1 показаны общие различия между механическими и немеханическими методами разрушения клеток.

В настоящее время используются следующие методы экстракции полисахаридов: экстракция горячей водой, экстракция горячей водой под давлением, экстракция с помощью микроволнового излучения, экстракция с помощью ультразвука, ферментативная экстракция, ферментативная экстракция с помощью ультразвука и экстракция с помощью



кислот и щелочей. При использовании этих видов были получены сходные показатели по выходу экстрактов, молекулярной массе, составу моносахаридов и содержанию нейтральных сахаров, фукозы, урановых кислот и сульфатных групп [5], однако для исследований выбрали два метода экстракции: механическую/физическую экстракцию ультразвуком и химическую экстракцию с использованием раствора этилендиаминтетрауксусной кислоты (ЭДТА).

Ультразвук действует в процессе, называемом кавитацией, которая создает ударные волны, влияющие на целостность клеточных стенок микроводорослей. Это увеличивает извлечение ряда соединений, в том числе менее доступных полисахаридов за более короткое время и при более низких температурах. Ультразвуковой метод разрушения клеток основан на силе сдвига жидкости, вызванной излучением звуковых волн высокой частоты (до 15–20 кГц). В жидкости эти звуковые волны создают газовые пузырьки или полости, которые после определенного количества циклов достигают критического размера, схлопываясь и выделяя большое количество энергии. Кроме того, акустическая кавитация происходит за счет повышения локальной температуры и образования гидроксильных радикалов, которые повреждают клеточную стенку [6]. Помимо того, что это масштабный метод с низкими эксплуатационными затратами, можно оптимизировать некоторые параметры (например, температуру, концентрацию клеток, интенсивность звука и время) с целью частичного разрушения клеток, что приведет к селективному высвобождению белков [7]. Более того, на многообещающее использование ультразвука для крупномасштабной обработки биомассы микроводорослей ранее указывали Wei et al. [8], которые предположили, что крупномасштабные реакторы ультразвуковой экстракции, используемые в пищевой и химической промышленности, могут быть легко модифицированы для проведения ультразвуковой экстракции биомолекул микроводорослей в количествах до 200 кг/ч сухой массы биомассы. Однако этот метод не очень эффективен для некоторых видов микроводорослей и обычно сочетается с химическими обработками для повышения эффективности и снижения потребности в энергии [9]. Ультразвук включает в себя быстрое сжатие и декомпрессию последовательностей звуковых волн. Этот непрерывный цикл создает кавитацию внутри ячейки, содержащей жидкий пар, называемый микропузырьками — они образуются за счет появления акустических волн движения молекул жидкости. В зависимости от интенсивности ультразвука микропузырьки сжимаются, а затем разрушаются. Следовательно, они повышают давление, производят тепло, свободные радикалы, ударные волны и, в конечном итоге, разрушают клеточные стенки.

Экзополисахариды обычно экстрагируют из культуральной среды путем осаждения спиртом. Термическая стабильность экзополисахаридов является ключевой характеристикой, которая открывает возможности для использования экзополисахаридов микроводорослей в пищевой, фармацевтической и косметической промышленности [10]. Экзополисахариды, полученные с использованием спиртов с различной длиной радикалов, отличаются растворимостью в воде и водоудерживающей способностью, что обеспечивает стабильные характеристики для их применения в качестве гидроколлоидов и стабилизаторов [11].

АК психрофильных микроводорослей и цианобактерий, используемые для детоксикации АФК, имеют углеводное и полифенольное происхождение с внутриклеточным или внеклеточным механизмом действия (например, гасители синглетного кислорода, поглотители радикалов, доноры электронов, доноры водорода, разлагатели пероксидов, ин-

гибиторы ферментов, регуляторы экспрессии генов, синергисты и металлохелатирующие агенты) [4].

АК психрофильных микроводорослей и цианобактерий — комплекс полисахаридов, который обладает способностью ингибировать окисление молекул и имеет множество медицинских и фармакологических применений. Из-за вредного воздействия обычных синтетических антиоксидантов их замена природными АК является правильным решением.

Данное исследование экстракции полисахаридов с помощью ультразвука было нацелено на изучение количественного выхода полисахаридов в зависимости от мощности и продолжительности экстракции и на определение антиоксидантной активности АК психрофильных микроводорослей и цианобактерий.

2. Объекты и методы

2.1. Объекты исследований

Объектами исследований в работе были образцы психрофильных микроводорослей и цианобактерий, которые отбирали из природных источников (вода, песок, почва). Отбор природных образцов осуществляли в период с марта 2022 г. по май 2022 г. в акватории Балтийского моря в Калининградской области (Куршский залив, Балтийский залив).

2.2. Определение эндополисахаридов

Для выделения эндополисахаридов взвешенный осадок культуральной жидкости растворяли в дистиллированной воде и подбирали параметры ультразвукового диспергирования в ультразвуковой установке Ultrasonic Processor (Antylia Scientific, США) с различной мощностью (20 Вт, 40 Вт, 60 Вт) и продолжительностью обработки (0,5; 1,0; 2,0; 3,0; и 4,0 мин). Затем массу эндополисахаридов измеряли антрон-серноокислым методом и пересчитывали на сухую биомассу (мг/г с. в.).

2.3. Определение экзополисахаридов

Присутствие и количественную оценку экзополисахаридов психрофильных микроводорослей и цианобактерий *Skeletonema pseudocostatum*, *Thalassiosira pseudonana*, *Fragilariopsis kerguelensis*, *Aphanizomenon gracile* и *Anabaena cylindrica* проводили методом антисульфата на каждом этапе выбора параметра. 150 мкл антронового агента (0,1% раствор перекристаллизованного антрона в концентрированной серной кислоте) добавляли в каждую лунку микропланшета (ДВ-эксперт, Москва, Россия), содержащего 50 мкл образцов. Затем пластины помещали в холодильник Pozis RK-102 S (Diamond Elektrik, Москва, Россия) на 10 мин при температуре 4 °С. После охлаждения образцы инкубировали в термостате А-24 (Millab, Москва, Россия) в течение 20 мин при 70 °С. После нагрева образцы охлаждали до комнатной температуры. Оптическую плотность измеряли при 620 нм. Стандартную кривую строили с применением растворов сахарозы [12].

Осаждение спиртом использовали в связи с тем, что при добавлении этанола в раствор полисахаридов он нарушал баланс взаимодействий между молекулами полисахарид-полисахарид и полисахарид-вода. Это вызывало агрегацию полисахаридов и в конечном счете выпадение в осадок [13].

Культуральную среду с клетками микроводорослей центрифугировали при 3900 об/мин в течение 20 мин в центрифуге 1701 Hettich ROTINA 380 (DV-expert, Москва, Россия), собирали надосадочную жидкость и фильтровали через бумажный фильтр с размером пор 2–3 мкм (Millab, Москва, Россия). Фильтрат смешивали с различными спиртами (этанол, бутанол, изопропанол) в различных соотношениях (1:1,

1:2, 1:3) и оставляли отстаиваться на 12 ч при различных температурах (–30 °С ... +30 °С с шагом 10 °С). После осаждения растворы центрифугировали при 3900 об/мин в центрифуге (DV-expert, Москва, Россия), надосадочную жидкость декантировали, а осадок высушивали в лиофильной сушилке «Иней-6» (Институт биологического приборостроения Российской академии наук, Пушкино, Россия) в течение 12 ч при –20 °С при давлении 0,350 мбар. После сушки выход выделенных полисахаридов определяли гравиметрически. Затем выделенную массу полисахарида пересчитывали на сухую биомассу (мг/г сухой биомассы) по формуле:

$$m = \frac{m_{od480}}{m_{d.w.}} \quad (1)$$

2.4. Определение антиоксидантной активности экстрактов микроводорослей

Для доказательства способности психрофильных микроводорослей и цианобактерий продуцировать полисахариды была выявлена антиоксидантная активность самих психрофильных микроводорослей и цианобактерий путем анализа активности по поглощению радикалов, восстанавливающей способности и хелатной активности.

При определении антиоксидантной активности методом DPPH 20 мкл образца психрофильных микроводорослей и цианобактерий или стандартного раствора (тролокса) смешивали с 300 мкл свежеприготовленного 0,1 мМ раствора 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила. Смесь инкубировали в темноте при комнатной температуре в течение 30 мин. Снижение оптической плотности по сравнению с контролем, состоящем из 0,1 мМ раствора 2,2-дифенил-1-пикрилгидразила и растворителя (метанола), регистрировали с использованием двухлучевого спектрофотометра UV-3600 (Shimadzu, Япония) при 515 нм [14].

При определении антиоксидантной активности методом ABTS предварительно готовили раствор с реактивом ABTS, который получали путем смешивания аликвот 7,0 мМ раствора реактива ABTS и 2,45 мМ раствора персульфата калия. Раствор выдерживали 16 часов в темном месте при комнатной температуре. Для запуска реакции 300 мкл раствора катионрадикала ABTS+ добавляли к 20 мкл психрофильных микроводорослей и цианобактерий или стандарта (тролокс). Оптическую плотность измеряли с использованием двухлучевого спектрофотометра UV-3600 (Shimadzu, Япония) при 734 нм после инкубации смеси в течение 15 мин при 37 °С в темноте. В качестве контроля применяли пробу с реактивом ABTS и соответствующим растворителем (метанолом) [13].

Для определения восстанавливающей активности психрофильных микроводорослей и цианобактерий использовали свежеприготовленный реагент FRAP, полученный путем смешивания 10 частей 0,3 М ацетатного буфера (рН 3,6), одной части 10 мМ раствора 2,4,6-трипиридил-*s*- триазина в 40 мМ HCl и одну часть 20 мМ водного раствора хлорида железа FeCl₃ × 6H₂O. Реакцию запускали смешиванием 300 мкл реагента FRAP и 20 мкл испытуемого АК или стандартного раствора (тролокс). Время реакции — 10 мин при 37 °С в темноте. Оптическую плотность определяли с использованием двухлучевого спектрофотометра UV-3600 (Shimadzu, Япония) при 593 нм. В качестве контроля применяли пробу с реагентом FRAP и соответствующим растворителем (метанолом).

При измерении антиоксидантной активности методами DPPH, ABTS и FRAP в качестве стандартного раствора использовали растворы тролокса (6-гидрокси-2,5,7,8-тетраметилхроман-2-карбоновая кислота) известной концентрации. При анализе психрофильных микроводорослей и цианобактерий результаты анализов выражали в мкмоль эквивалентов тролокса на грамм сухого веса (мкмоль экви-

валентов тролокса/г). Все спектрофотометрические измерения были выполнены с использованием устройства для чтения CLARIOstar (BMG Labtech, Ортенберг, Германия).

2.5 Статистический анализ

Все эксперименты и вычисления проводились в трех повторностях. Результаты представляли как среднее значение ± стандартное отклонение. Для обработки полученных данных использовали стандартные статистические методы. Данные подвергали дисперсионному анализу (ANOVA) с применением пакета Statistica 10.0 (StatSoft Inc., 2007, США). Апостериорный анализ (критерий Дункана) проводился для выявления образцов, существенно отличающихся друг от друга. Равенство дисперсий извлеченных выборок проверяли с помощью критерия Левена. Различия между средними считались значимыми, если доверительный интервал был менее 5% (p < 0,05). Графики строили с помощью пакета Excel (Microsoft 300 Office, Microsoft Corporation, 15.0, 2016, «Редмонд», Вашингтон, США).

3. Результаты и обсуждение

В Таблице 1 показана зависимость выхода полисахаридов от времени и мощности обработки ультразвуком.

Таблица 1. Влияние параметров ультразвуковой обработки на выход полисахаридов из клеток микроводорослей и цианобактерий

Table 1. Effect of ultrasonic treatment parameters on the yield of polysaccharides from the cells of microalgae and cyanobacteria

Мощность, Вт	Время обработки, мин	Выход полисахаридов, мг/г с. в.					
		1	2	3	4	5	
20	<i>Skeletonema pseudocostatum</i>	6,49±0,2*	28,72±0,9	27,39±0,8	23,77±0,7	43,38±1,3*	
	<i>Thalassiosira pseudonana</i>	21,10±0,6	37,45±1,1*	46,96±1,4*	27,49±0,8	82,19±2,5	
	<i>Fragilariaopsis kerguelensis</i>	25,16±0,6	50,73±1,5	54,78±1,6	37,41±1,1	86,76±2,6	
	<i>Aphanizomenon gracile</i>	26,79±0,8*	46,30±1,4	60,00±1,8*	65,11±1,9*	95,89±2,9	
	<i>Anabaena cylindrica</i>	30,84±0,9	57,48±1,4*	62,61±1,9	56,15±1,7	105,02±3,2	
		0,5	9,74±0,3	35,24±1,1	28,70±0,9	28,59±0,9*	47,95±1,4
		1,0	33,28±1,0	45,02±1,4	53,48±1,6	34,24±1,0	89,04±2,7
		2,0	36,79±1,1	53,52±1,6	60,00±1,8*	26,66±0,8	100,46±3,0*
		3,0	34,90±1,0	62,73±1,9	66,52±1,9	45,54±1,4	109,59±3,3
		4,0	25,97±0,6	64,01±1,9	69,13±2,1	40,72±1,2	118,72±3,6
40		0,5	12,18±0,4	47,47±1,4	27,39±0,8	25,42±0,8	70,78±2,1
		1,0	35,71±1,1	48,98±1,5*	66,52±2,0	23,91±0,7	132,42±3,9
		2,0	53,38±1,6	49,11±1,5	74,09±2,2	33,55±1,0*	146,35±4,4
		3,0	41,40±1,2*	68,18±2,0*	73,17±2,2	57,80±1,7	146,30±4,4
		4,0	37,34±1,1	56,32±1,7	62,61±1,9	29,42±0,9	134,70±4,0*

Примечание: Значения строк, за которыми следует знак *, существенно не отличаются (p > 0,05), оценены с помощью апостериорного теста (критерия Дункана).

Поле получения данных, представленных в Таблице 1, было определено, что универсальных параметров ультразвуковой обработки для всех исследуемых микроводорослей и цианобактерий нет, однако при максимальной выбранной мощности (60 Вт) почти у всех образцов наблюдался максимальный выход полисахаридов в раствор. Время обработки при 60 Вт для наибольшего выхода полисахаридов колеблется между 2–3 минутами. При этом варианте физической обработки максимальный выход полисахаридов

наблюдается для цианобактерии *Anabaena cylindrica* и равен $146,35 \pm 4,4$ мг/г с. в. Также высокий выход, равный $74,09 \pm 2,2$ мг/г с. в., отмечается при мощности 60 Вт и продолжительности обработки 2 минуты для образца микроводоросли *Fragilariopsis kerguelensis*.

При более длительной обработке количество полисахаридов снижалось. Вероятно, это связано с разрушением их структуры под действием ультразвука. Наименьший выход полисахаридов установлен при мощности ультразвуковой обработки микроводоросли *Skeletonema pseudocostatum* 20 Вт в течение 0,5 минут; выход составил $6,49 \pm 0,2$ мг/г с. в.

Известно, что полисахариды трудно экстрагируются водой, однако их можно солубилизовать с помощью хелатирующих агентов, таких как этилендиаминтетрауксусная кислота (ЭДТА) или 1,2-диаминоциклогексан-N, N, N0, N0-тетрауксусная кислота (CDТА) [14]. В ходе проведения работы исследовали влияние различных концентраций ЭДТА на количественное извлечение полисахаридов из клеток микроводорослей и цианобактерий. В процессе изучения литературных данных были выбраны следующие концентрации ЭДТА: 1%, 2%, 4%, 6%.

В Таблице 2 представлены результаты эксперимента по подбору концентрации ЭДТА с целью более полной экстракции полисахаридов.

Таблица 2. Влияние концентрации ЭДТА на выход полисахаридов

Table 2. Effect of EDTA concentration on the yield of polysaccharides

Концентрация ЭДТА, %	Выход полисахаридов, мг/г с. в.				
	<i>Skeletonema pseudocostatum</i>	<i>Thalassiosira pseudonana</i>	<i>Fragilariopsis kerguelensis</i>	<i>Aphanizomenon gracile</i>	<i>Anabaena cylindrica</i>
1	$14,61 \pm 0,4^*$	$25,91 \pm 0,8$	$15,65 \pm 0,5$	$69,12 \pm 2,1^*$	$150,68 \pm 4,5$
2	$22,21 \pm 0,7$	$34,90 \pm 1,0$	$49,57 \pm 1,5^*$	$72,41 \pm 2,2$	$155,25 \pm 4,7$
4	$14,15 \pm 0,4$	$33,12 \pm 1,0$	$53,48 \pm 1,7^*$	$61,13 \pm 1,8$	$132,42 \pm 3,9$
6	$12,18 \pm 0,4$	$30,00 \pm 0,9$	$46,96 \pm 1,4$	$60,08 \pm 1,8^*$	$132,42 \pm 3,9^*$

Примечание: значения строк, за которыми следует знак *, существенно не отличаются ($p > 0,05$), оценены с помощью апостериорного теста (критерия Дункана).

После проведения эксперимента были сделаны выводы, что оптимальная концентрация ЭДТА для экстракции полисахаридов для большинства микроводорослей и цианобактерий составляет 2%. При данной концентрации ЭДТА наибольший выход полисахаридов наблюдался для цианобактерий *Aphanizomenon gracile* и *Anabaena cylindrica* — $72,41 \pm 2,2$ мг/г с. в. и $155,25 \pm 4,7$ мг/г с. в. соответственно.

В результате экспериментального подбора режимов и сбора теоретических данных были подобраны условия экстракции полисахаридов из биомассы отобранных штаммов микроводорослей и цианобактерий. Исходя из литературных данных [15], оптимальными методами экстракции полисахаридов является химическая экстракция ЭДТА и ультразвуковая обработка.

В Таблице 3 представлены количественные выходы спиртового осаждения полисахаридов этанолом (96%) в разных соотношениях и при разных температурах.

Анализируя полученные данные (Таблица 3), можно сделать вывод, что максимальный выход полисахаридов в культуральную среду наблюдался при 5°C , модуле экстракции (образец: спирт) 1:2 для психрофильных цианобактерий *Aphanizomenon gracile* и *Anabaena cylindrica* — $1134,3 \pm 34,0$ мг/г с. в. и $1611,9 \pm 48,3$ мг/г с. в. соответственно. Начальная кон-

центрация этанола составляла 96%. Наименьший выход полисахаридов отмечался при 10°C , модуле экстракции 1:1 для психрофильной микроводоросли *Skeletonema pseudocostatum* — $104,5 \pm 3,1$ мг/г с. в. Психрофильные микроводоросли *Thalassiosira pseudonana* и *Fragilariopsis kerguelensis* выделяют наибольшее количество полисахаридов при 5°C , модуле экстракции 1:2 — $432,8 \pm 12,9$ мг/г с. в. и $537,8 \pm 16,2$ мг/г с. в. соответственно. Выявлено, что при 10°C и модуле экстракции 1:1 все психрофильные микроводоросли и цианобактерии *Skeletonema pseudocostatum*, *Thalassiosira pseudonana*, *Fragilariopsis kerguelensis*, *Aphanizomenon gracile* и *Anabaena cylindrica* выделяют наименьшее количество экзополисахаридов в культуральную среду.

Таблица 3. Содержание полисахаридов в психрофильных микроводорослях и цианобактериях *Skeletonema pseudocostatum*, *Thalassiosira pseudonana*, *Fragilariopsis kerguelensis*, *Aphanizomenon gracile* и *Anabaena cylindrica* в зависимости от условий экстракции

Table 3. Content of polysaccharides in psychrophilic microalgae and cyanobacteria *Skeletonema pseudocostatum*, *Thalassiosira pseudonana*, *Fragilariopsis kerguelensis*, *Aphanizomenon gracile* and *Anabaena cylindrica* depending on the conditions of extraction

Наименование образца	Модуль экстракции, (образец: спирт)	Температура осадков, $^\circ\text{C}$	Выход экзополисахаридов, мг/г с. в.
<i>Skeletonema pseudocostatum</i>	1:1	10	$104,5 \pm 3,1^*$
		5	$239,1 \pm 7,3$
		0	$179,1 \pm 5,3$
	1:2	10	$194,0 \pm 5,8$
		5	$806,0 \pm 24,1$
		0	$253,7 \pm 7,6$
<i>Thalassiosira pseudonana</i>	1:1	10	$477,6 \pm 14,3$
		5	$955,2 \pm 28,6$
		0	$373,1 \pm 11,2^*$
	1:2	10	$328,4 \pm 9,8$
		5	$432,8 \pm 12,9^*$
		0	$358,2 \pm 10,7$
<i>Fragilariopsis kerguelensis</i>	1:1	10	$159,7 \pm 1,8^*$
		5	$343,3 \pm 10,3$
		0	$174,6 \pm 2,2$
	1:2	10	$189,1 \pm 5,3$
		5	$537,8 \pm 16,2$
		0	$253,7 \pm 7,6^*$
<i>Aphanizomenon gracile</i>	1:1	10	$507,5 \pm 15,2$
		5	$940,3 \pm 28,2$
		0	$626,9 \pm 18,7$
	1:2	10	$716,4 \pm 21,4$
		5	$985,1 \pm 29,5$
		0	$806,0 \pm 24,2$
<i>Anabaena cylindrica</i>	1:1	10	$850,7 \pm 25,5$
		5	$1134,3 \pm 34,0$
		0	$955,2 \pm 28,6$
	1:2	10	$641,8 \pm 19,2$
		5	$1611,9 \pm 48,3$
		0	$985,3 \pm 29,5$

Примечание: значения строк, за которыми следует знак *, существенно не отличаются ($p > 0,05$), оценены с помощью апостериорного теста (критерия Дункана).

Анализ табличных данных (Таблица 3) свидетельствует о том, что для экстракции психрофильных микроводорослей и цианобактерий *Skeletonema pseudocostatum*, *Thalassiosira pseudonana*, *Fragilariopsis kerguelensis*, *Aphanizomenon*

gracile и *Anabaena cylindrica* рациональное использование 96%-го этанола в качестве экстрагента при модуле экстракции (образец: спирт) 1:2 и температуре экстракции 5 °С.

Стоит отметить, что не существует универсального метода разрушения клеточной стенки, и часто следует отдавать предпочтение комбинации методов. Выбор зависит не только от конкретного вида микроводорослей, но и от конечной цели или целевых продуктов. Исследователь должен принимать во внимание такие важные аспекты, как загрязнение материалов, стоимость оборудования, эксплуатационные расходы и другие факторы. Кроме того, важно подчеркнуть, что, помимо эффективности экстракции и качества полисахаридов, выбранный метод разрушения клеток может напрямую влиять на последующие этапы очистки полисахаридов микроводорослей и цианобактерий.

Результаты определения антиоксидантной активности психрофильных микроводорослей и цианобактерий *Skeletonema pseudocostatum*, *Thalassiosira pseudonana*, *Fragilariopsis kerguelensis*, *Aphanizomenon gracile* и *Anabaena cylindrica* представлены в Таблице 4.

Таблица 4. Антиоксидантная активность психрофильных микроводорослей и цианобактерий *Skeletonema pseudocostatum*, *Thalassiosira pseudonana*, *Fragilariopsis kerguelensis*, *Aphanizomenon gracile* и *Anabaena cylindrica*

Table 4. Antioxidant activity of psychrophilic microalgae and cyanobacteria *Skeletonema pseudocostatum*, *Thalassiosira pseudonana*, *Fragilariopsis kerguelensis*, *Aphanizomenon gracile* and *Anabaena cylindrica*

Название психрофильных микроводорослей и цианобактерий	Антиоксидантная активность, мкмоль эквивалентов тролокса/г		
	ABTS	DPPH	FRAP
<i>Skeletonema pseudocostatum</i>	17,62±0,91	58,16±3,90	3,91±0,12
<i>Thalassiosira pseudonana</i>	12,08±0,62	12,42±0,43*	3,13±0,26
<i>Fragilariopsis kerguelensis</i>	13,53±0,73*	11,84±0,36	1,09±0,13
<i>Aphanizomenon gracile</i>	15,73±0,82	19,89±0,97	2,47±0,23
<i>Anabaena cylindrica</i>	12,62±0,64	13,16±0,53	2,16±0,24*

Примечание: значения строк, за которыми следует знак *, существенно не отличаются ($p > 0,05$), оценены с помощью апостериорного теста (критерия Дункана).

Согласно данным Таблицы 4, наибольшей антиоксидантной активностью по всем трем способам обладает психрофильная микроводоросль *Skeletonema pseudocostatum*. Антиоксидантная активность по методу ABTS для данной микроводоросли составляет 17,62±0,91 мкмоль эквивалентов тролокса/г; по методу DPPH — 58,16±3,90 мкмоль эквивалентов тролокса/г; по методу FRAP — 3,91±0,12 мкмоль эквивалентов тролокса/г. Психрофильная микроводоросль *Thalassiosira pseudonana* проявляет следующие значения антиоксидантной активности: по методу ABTS — 12,08±0,62 мкмоль эквивалентов тролокса/г; по методу DPPH — 12,42±0,43 мкмоль эквивалентов тролокса/г; по методу FRAP — 3,13±0,26 мкмоль эквивалентов тролокса/г. Антиоксидантная активность психрофильной микроводоросли *Fragilariopsis kerguelensis* составляет: по методу ABTS — 13,53±0,73 мкмоль эквивалентов тролокса/г; по методу DPPH — 11,84±0,36 мкмоль эквивалентов тролокса/г; по методу FRAP — 1,09±0,13 мкмоль эквивалентов тролокса/г. Антиоксидантная активность психрофильной цианобактерии *Aphanizomenon gracile* составляет: по методу ABTS — 15,73±0,82 мкмоль эквивалентов тролокса/г; по методу DPPH — 19,89±0,97 мкмоль эквивалентов тролокса/г; по методу FRAP — 2,47±0,23 мкмоль эквивалентов тролокса/г. Величина антиоксидантной активности психрофильной цианобактерии *Anabaena cylindrica* оказалась равной: по методу ABTS — 12,62±0,64 мкмоль эквивалентов тролокса/г; по методу DPPH — 13,16±0,53 мкмоль экви-

валентов тролокса/г, по методу FRAP — 2,16±0,24 мкмоль эквивалентов тролокса/г.

Однако для исключения влияния на антиоксидантную активность психрофильных микроводорослей и цианобактерий различных загрязнителей, балластных и мешающих веществ (белков, липидов, пигментов, витаминов, органических и неорганических примесей и т. д.) необходимо выделять и очищать АК данных микроорганизмов. Предполагается, что повышенная антиоксидантная активность выделенных и очищенных АК психрофильных микроводорослей и цианобактерий *Skeletonema pseudocostatum*, *Thalassiosira pseudonana*, *Fragilariopsis kerguelensis*, *Aphanizomenon gracile* и *Anabaena cylindrica* связана со взаимным экранированием восстанавливающих центров АК (экзо- и эндополисахаридов), а также с увеличением их доступности за счет конформационных изменений макромолекул, вызванных образованием внутри- и межмолекулярных водородных связей [14,15].

Структурная сложность полисахаридов ограничивает возможность для их исследования, несмотря на интерес научного сообщества к их биологической активности и потенциал использования в качестве гидроколлоидов в различных отраслях. Кроме того, полисахариды редко рассматриваются авторами как ценные молекулы — скорее, как побочные продукты при получении пигментов или липидов. Например, хорошо изученный штамм микроводорослей *Porphyridium* используется в основном для получения β-фикоэритрина, и только небольшая часть биомассы штамма предназначена для получения экзополисахаридов для косметической отрасли [16]. Часто процесс экстракции полисахаридов из биомассы микроводорослей не приспособлен к обработке этих плохо растворимых полимеров, которые часто образуются в среде с высоким содержанием солей.

Известно, что микроскопические водоросли могут выделять большое количество полисахаридов, представляющих собой значительное количество органического углерода [17]. Многие микроводоросли, особенно живущие в прибрежной среде, производят и выделяют полисахаридные слизи, покрывающие их клетки и предназначенные для защиты от неблагоприятных воздействий окружающей среды. Полисахариды из микроводорослей и особенно из цианобактерий образуют органоминеральные слои на поверхности почвы, которые приводят к формированию биологических почвенных корок, являющихся высокоспециализированными микробными сообществами [18–19]. Они также важны в экологическом контексте, поскольку способны ингибировать инфекции микроводорослей [20]. Известно, что микроводоросли являются значительными производителями полисахаридов в диапазоне от около 0,5 г/л до 20 г/л [21], но очень немногие исследователи изучали их производство.

Полисахариды из микроводорослей могут оставаться связанными с клеточной поверхностью или высвободиться в окружающую среду [22]. Статус связанных с клетками полисахаридов до сих пор не ясен, особенно это касается полисахаридов, синтезируемых цианобактериями, их иногда называют экзополисахаридами, экзополимерными субстанциями, экстраклеточными полисахаридами, экстраклеточными протеогликанами, выделенными полисахаридами, капсульными полисахаридами и сульфатированными полисахаридами [23–25].

У микроводорослей синтез полисахаридов осуществляется в аппарате Гольджи, в то время как у цианобактерий — в цитоплазме [26,27]. Основные стадии синтеза экзополисахаридов в микроводорослях: образование активированных сахаров (прекурсоров); их сборка с помощью гликозилтрансфераз и экспорт полимеров во внеклеточное

пространство или встраивание в мембрану клетки [28]. Тем не менее точная информация о механизме участия ферментов в синтезе экзополисахаридов для микроводорослей не опубликована.

Обнаружение продуцентов полисахаридов — трудоемкий процесс, поскольку они часто синтезируются микроводорослями только при специфических условиях культивирования (например, азотное голодание) или в специфических фазах роста, некоторые из них имеют статус вторичных метаболитов. Содержание экзополисахаридов в супернатанте культуральной среды детектировалось фенол-сернокислотным методом [29] или другими колориметрическими методами [30–32]. Однако эти методы не способны детектировать связанные с клеткой экзополисахариды и дают не вполне удовлетворительные результаты для растворимых полисахаридов в среде с высоким содержанием солей. Качественная и количественная оценка вязкости культуральной среды при росте микроводорослей может служить хорошим индикатором высвобождения биополимеров клеткой и их концентраций.

Гетерополимеры, продуцируемые микроводорослями, в основном состоят из ксиланы, галактозы и глюкозы, даже если другие моносахариды (манноза, фукоза, рамноза, рибоза, арабиноза, фруктоза, галактуроновая кислота и др.) присутствуют в их структуре [30]. Только небольшое количество экзополисахаридов, продуцируемых микроводорослями, удалось детально описать (гликозидные связи), и ни одно из проведенных исследований не привело к получению описанной структуры на практике. Очевидное отсутствие повторяющихся звеньев, присутствие немногочисленных неуглеводных заместителей, таких как сульфатные, метильные, ацетильные и пируватные группы, являются причинами плохого знания полисахаридных структур. Тем не менее для опережающего развития биотехнологии необходимо иметь доступ к подробной структурной информации с целью установления взаимосвязи между структурой и биологическими и/или физико-химическими свойствами полисахаридов.

Основными биологическими активностями экзополисахаридов, продуцируемых микроводорослями, описанными в литературе, являются противовоспалительная, иммуномодулирующая, противоопухолевая, противовирусная, противопаразитарная, антиоксидантная, гипогликемическая и гипохолестеринемическая. За исключением применения в косметической индустрии, полисахариды не востребованы в областях терапии, питания человека, производства здоровой пищи и кормопроизводства ввиду их высокой сто-

имости и недостатка информации об их структурах. Одним из способов повышения экономической конкурентоспособности может стать повышение знаний о методологиях культивирования микроводорослей для производства экзополисахаридов, о способах их извлечения и аналитических процедурах для описания их характеристик.

4. Выводы

Таким образом, был исследован процесс экстракции полисахаридов с помощью ультразвука, изучен количественный выход полисахаридов в зависимости от мощности и продолжительности экстракции. Определена антиоксидантная активность антиоксидантного комплекса психрофильных микроводорослей и цианобактерий *Skeletonema pseudocostatum*, *Thalassiosira pseudonana*, *Fragilariopsis kerguelensis*, *Aphanizomenon gracile* и *Anabaena cylindrica*. В результате проведенных исследований были определены рациональные условия экстракции антиоксидантного комплекса из культуральной жидкости и связанных с клетками психрофильных микроводорослей и цианобактерий *Skeletonema pseudocostatum*, *Thalassiosira pseudonana*, *Fragilariopsis kerguelensis*, *Aphanizomenon gracile* и *Anabaena cylindrica*. Максимальные выходы эндополисахаридов наблюдались в ходе эксперимента по химической экстракции ЭДТА с концентрацией 2% для цианобактерий *Aphanizomenon gracile* и *Anabaena cylindrica*.

Установлено, что для экстракции экзополисахаридов психрофильных микроводорослей и цианобактерий *Skeletonema pseudocostatum*, *Thalassiosira pseudonana*, *Fragilariopsis kerguelensis*, *Aphanizomenon gracile* и *Anabaena cylindrica* используется этанольная экстракция с модулем экстракции 1:2 и температурой экстракции 5 °С.

В результате проведенных исследований изучена способность психрофильных микроводорослей и цианобактерий *Skeletonema pseudocostatum*, *Thalassiosira pseudonana*, *Fragilariopsis kerguelensis*, *Aphanizomenon gracile* и *Anabaena cylindrica* продуцировать АК. Выявлено, что в состав данного комплекса входят полисахариды: эндо- и экзополисахариды. Способность психрофильных микроводорослей и цианобактерий *Skeletonema pseudocostatum*, *Thalassiosira pseudonana*, *Fragilariopsis kerguelensis*, *Aphanizomenon gracile* и *Anabaena cylindrica* продуцировать АК доказана наличием значительной антиоксидантной активности психрофильных микроводорослей и цианобактерий, определенной методами ABTS, DPPH и FRAP. Наибольшей антиоксидантной активностью обладает психрофильная микроводоросль *Skeletonema pseudocostatum*.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

- Coulombier, N., Nicolau, E., Le Déan, L., Antheaume, C., Jauffrais, T., Lebouvier, N. (2020). Impact of light intensity on antioxidant activity of tropical microalgae. *Marine Drugs*, 18(2), Article 122. <https://doi.org/10.3390/md18020122>
- Coulombier, N., Blanchier, P., Le Dean, L., Barthelemy, V., Lebouvier, N., Jauffrais, T. (2021). The effects of CO₂-induced acidification on *Tetraselmis* biomass production, photophysiology and antioxidant activity: A comparison using batch and continuous culture. *Journal of Biotechnology*, 325, 312–324. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2020.10.005>
- Coulombier, N., Nicolau, E., Le Déan, L., Barthelemy, V., Schreiber, N., Brun, P. et al. (2020). Effects of nitrogen availability on the antioxidant activity and carotenoid content of the microalgae *Nephroselmis* sp. *Marine Drugs*, 18(9), Article 453. <https://doi.org/10.3390/md18090453>
- Oleinić, G., Dario, P. P., de Moraes Gasperin, K., Benvegnú, D. M., Lima, F. O., Soares, L. C. et al. (2022). *In vitro* antioxidant extracts evaluation from the residue of the *Hevea brasiliensis* seed. *Scientific Reports*, 12, Article 480. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-04017-w>
- Gao, J., Lin, L., Sun, B., Zhao, M. (2017). A comparison study on polysaccharides extracted from *Laminaria japonica* using different methods: structural characterization and bile acid-binding capacity. *Food and Function*, 8(9), 3043–3052. <https://doi.org/10.1039/C7FO00218A>
- Wang, M., Chen, S., Zhou, W., Yuan, W., Wang, D. (2020). Algal cell lysis by bacteria: a review and comparison to conventional methods. *Algal Research*, 46, Article 101794. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.101794>
- Gomes, T. A., Zanette, C. M., Spier, M. R. (2020). An overview of cell disruption methods for intracellular biomolecules recovery. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, 50(7), 635–654. <https://doi.org/10.1080/1080.1080.1728696>
- Wei, S., Li, Y., Zhan, J., Wang, S., Zhu, J. (2012). Tolerant mechanisms of *Rorippa globosa* (Turcz.) Thell. hyperaccumulating Cd explored from root morphology. *Bioresource Technology*, 118, 455–459. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.05.049>
- Muylaert, K., Bastiaens, L., Vandamme, D., Gouveia, L. Harvesting of microalgae: Overview of process options and their strengths and drawbacks. Chapter in a book: *Microalgae-Based Biofuels and Bioproducts: From Feedstock Cultivation to End Products*. Woodhead Publishing Series in Energy: Duxford, UK, 2017. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-101023-5.00005-4>

10. Лукьянов, В. А., Стифеев, А. И., Горбунова, С. Ю. (2013). Научно обоснованное культивирование микроводорослей. *Вестник Курской государственной сельскохозяйственной академии*, 9, 55–57.
11. Zhou, Q., Feng, F., Yang, Y., Zhao, F., Du, R., Zhou, Z. et al. (2018). Characterization of a dextran produced by *Leuconostoc pseudomesenteroides* XG5 from homemade wine. *Journal of Biological Macromolecules*, 107(B), 2234–2241. <https://doi.org/10.1016/j.jbiomac.2017.10.098>
12. Mu, P., Plummer, D.T. (2001). Introduction to practical biochemistry. Tata McGraw-Hill Education: New York, NY, USA, 2001.
13. Guo, Q., Ai, L., Cui, S.W. (2018). Polysaccharide Extraction and Fractionation. Chapter in a book: *Methodology for Structural Analysis of Polysaccharides*. Springer: Cham, Switzerland, 2018. https://doi.org/10.1007/978-3-319-96370-9_2
14. Zheng, Y., Yang, G., Zhao, Z., Guo, T., Shi, H., Zhou, Y. et al. (2016). Structural analysis of ginseng polysaccharides extracted by EDTA solution. *RSC Advances*, 6(4), 2724–2730. <https://doi.org/10.1039/C5RA22751H>
15. Liang, Z., Li, W., Yang, S., Du, P. (2010). Extraction and structural characteristics of extracellular polymeric substances (EPS), pellets in autotrophic nitrifying biofilm and activated sludge. *Chemosphere*, 81(5), 626–632. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.03.043>
16. Hegedus, A., Barbu-Tudoran, L., Druga, B., Coman, C., Nicoara, A., Nagy, T.S. et al. (2012). *Desmodesmus communis* (Chlorophyta) from Romanian freshwaters: coenobial morphology and molecular taxonomy based on the ITS2 of new isolates. *Annals of the Romanian Society for Cell Biology*, 17(1), 16–28.
17. Bobrov, Z., Tracton, I., Taunton, K., Mathews, M. (2008). Effectiveness of whole dried *Dunaliella salina* marine microalgae in the chelating and detoxification of toxic minerals and heavy metals. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 14, 8–9.
18. Boussiba, S. (2000). Carotenogenesis in the green alga *Haematococcus pluvialis*: cellular physiology and stress response. *Physiologia Plantarum*, 108(2), 111–117. <https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.2000.108002111.x>
19. Cao, M., Kang, J., Gao, Y., Wang, X., Pan, X., Liu, P. (2020). Optimization of cultivation conditions for enhancing biomass, polysaccharide and protein yields of *Chlorella sorokiniana* by response surface methodology. *Aquaculture Research*, 51(6), 2456–2471. <https://doi.org/10.1111/are.14589>
20. Cardemil, L., Wolk, C. P. (1981). Polysaccharides from the envelopes of heterocysts and spores of the blue-green algae *Anabaena variabilis* and *Cylindrospermum licheniforme*. *Journal of Phycology*, 17(3), 234–240. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.1981.tb00845.x>
21. Chakraborty, M., Miao, C., McDonald, A., Chen, S. (2012). Concomitant extraction of bio-oil and value added polysaccharides from *Chlorella sorokiniana* using a unique sequential hydrothermal extraction technology. *Fuel*, 95, 63–70. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2011.10.05>
22. Chen, X., Song, L., Wang, H., Liu, S., Yu, H., Wang, X. et al. (2019). Partial characterization, the immune modulation and anticancer activities of sulfated polysaccharides from filamentous microalgae *Tribonema* sp. *Molecules*, 24(2), Article 322. <https://doi.org/10.3390/molecules24020322>
23. Chen, Y., Liu, X., Wu, L., Tong, A., Zhao, L., Liu, B. et al. (2018). Physico-chemical characterization of polysaccharides from *Chlorella pyrenoidosa* and its anti-ageing effects in *Drosophila melanogaster*. *Carbohydrate Polymers*, 185, 120–126. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.12.077>
24. Chen, Y., Lin, H., Li, Z., Mou, Q. (2015). The anti-allergic activity of polyphenol extracted from five marine algae. *Journal of Ocean University of China*, 14(4), 681–684. <https://doi.org/10.1007/s11802-015-2601-5>
25. Chen, Y.-X., Liu, X.-Y., Xiao, Z., Huang, Y.-F., Liu, B. (2016). Antioxidant activities of polysaccharides obtained from *Chlorella pyrenoidosa* via different ethanol concentrations. *International Journal of Biological Macromolecules*, 91, 505–509. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.05.086>
26. Conte, M. V., Pore, R. S. (1973). Taxonomic implications of *Prototheca* and *Chlorella* cell wall polysaccharide characterization. *Archiv für Mikrobiologie*, 92(3), 227–233. <https://doi.org/10.1007/BF00411203>
27. Costa, J. A. V., Lucas, B. F., Alvarenga, A. G. P., Moreira, J. B., de Moraes, M. G. (2021). Microalgae polysaccharides: An overview of production, characterization, and potential applications. *Polysaccharides*, 2(4), 759–772. <https://doi.org/10.3390/polysaccharides2040046>
28. de Macedo Dantas, D. M., de Oliveira, C. Y. B., Costa, R. M. P. B., Carneiro-da-Cunha, M. D. G., Gálvez, A. O. et al. (2019). Evaluation of antioxidant and antibacterial capacity of green microalgae *Scenedesmus subspicatus*. *Food Science and Technology International*, 25(4), 318–326. <https://doi.org/10.1177/1082013218825024>
29. de Jesus, C. S., de Jesus Assis, D., Rodriguez, M. B., Filho, J. A. M., Costa, J. A. V., de Souza Ferreira, E. et al. (2019). Pilot-scale isolation and characterization of extracellular polymeric substances (EPS) from cell-free medium of *Spirulina* sp. LEB-18 cultures under outdoor conditions. *International Journal of Biological Macromolecules*, 124, 1106–1114. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.12.016>
30. de Moraes, M. G., da Silva Vaz, B., Greque de Moraes, E. G., Costa, J. A. V. (2015). Biologically active metabolites synthesized by microalgae. *BioMed Research International*, 2015, Article 835761. <https://doi.org/10.1155/2015/835761>
31. Deamici, K. M., de Moraes, M. G., Santos, L. O., Muylaert, K., Gardarin, C., Costa, J. A. V. et al. (2021). Static magnetic fields effects on polysaccharides production by different microalgae strains. *Applied Sciences*, 11(11), Article 5299. <https://doi.org/10.3390/app11115299>
32. Decamp, A., Michelo, O., Rabbat C., Laroche, C., Grizeau, D., Pruvost, J. et al. (2021). A new, quick, and simple protocol to evaluate microalgae polysaccharide composition. *Marine Drugs*, 19(2), Article 101. <https://doi.org/10.3390/md19020101>

REFERENCES

1. Coulombier, N., Nicolau, E., Le Déan, L., Antheaume, C., Jauffrais, T., Lebouvier, N. (2020). Impact of light intensity on antioxidant activity of tropical microalgae. *Marine Drugs*, 18(2), Article 122. <https://doi.org/10.3390/md18020122>
2. Coulombier, N., Blanchier, P., Le Dean, L., Barthelemy, V., Lebouvier, N., Jauffrais, T. (2021). The effects of CO₂-induced acidification on *Tetraselmis* biomass production, photophysiology and antioxidant activity: A comparison using batch and continuous culture. *Journal of Biotechnology*, 325, 312–324. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2020.10.005>
3. Coulombier, N., Nicolau, E., Le Déan, L., Barthelemy, V., Schreiber, N., Brun, P. et al. (2020). Effects of nitrogen availability on the antioxidant activity and carotenoid content of the microalgae *Nephroselmis* sp. *Marine Drugs*, 18(9), Article 453. <https://doi.org/10.3390/md18090453>
4. Oleinik, G., Dario, P. P., de Moraes Gasperin, K., Benvegnú, D. M., Lima, F. O., Soares, L. C. et al. (2022). *In vitro* antioxidant extracts evaluation from the residue of the *Hevea brasiliensis* seed. *Scientific Reports*, 12, Article 480. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-04017-w>
5. Gao, J., Lin, L., Sun, B., Zhao, M. (2017). A comparison study on polysaccharides extracted from *Laminaria japonica* using different methods: structural characterization and bile acid-binding capacity. *Food and Function*, 8(9), 3043–3052. <https://doi.org/10.1039/C7FO00218A>
6. Wang, M., Chen, S., Zhou, W., Yuan, W., Wang, D. (2020). Algal cell lysis by bacteria: a review and comparison to conventional methods. *Algal Research*, 46, Article 101794. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.101794>
7. Gomes, T. A., Zanette, C. M., Spier, M. R. (2020). An overview of cell disruption methods for intracellular biomolecules recovery. *Preparative Biochemistry and Biotechnology*, 50(7), 635–654. <https://doi.org/10.1080/10801786.2020.1728696>
8. Wei, S., Li, Y., Zhan, J., Wang, S., Zhu, J. (2012). Tolerant mechanisms of *Rorippa globosa* (Turcz.) Thell. hyperaccumulating Cd explored from root morphology. *Bioresource Technology*, 118, 455–459. <https://doi.org/10.1016/j.biortech.2012.05.049>
9. Muylaert, K., Bastiaens, L., Vandamme, D., Gouveia, L. Harvesting of microalgae: Overview of process options and their strengths and drawbacks. Chapter in a book: *Microalgae-Based Biofuels and Bioproducts: From Feedstock Cultivation to End Products*. Woodhead Publishing Series in Energy: Duxford, UK, 2017. <https://doi.org/10.1016/B978-0-08-101023-5.00005-4>
10. Lukyanov, V. A., Stifeev, A. I., Gorbunova, S. Yu. (2013). Science-based cultivation of microalgae. *Bulletin of the Kursk State Agricultural Academy*, 9, 55–57. (In Russian)
11. Zhou, Q., Feng, F., Yang, Y., Zhao, F., Du, R., Zhou, Z. et al. (2018). Characterization of a dextran produced by *Leuconostoc pseudomesenteroides* XG5 from homemade wine. *Journal of Biological Macromolecules*, 107(B), 2234–2241. <https://doi.org/10.1016/j.jbiomac.2017.10.098>
12. Mu, P., Plummer, D. T. (2001). Introduction to practical biochemistry. Tata McGraw-Hill Education: New York, NY, USA, 2001.
13. Guo, Q., Ai, L., Cui, S. W. (2018). Polysaccharide Extraction and Fractionation. Chapter in a book: *Methodology for Structural Analysis of Polysaccharides*. Springer: Cham, Switzerland, 2018. https://doi.org/10.1007/978-3-319-96370-9_2
14. Zheng, Y., Yang, G., Zhao, Z., Guo, T., Shi, H., Zhou, Y. et al. (2016). Structural analysis of ginseng polysaccharides extracted by EDTA solution. *RSC Advances*, 6(4), 2724–2730. <https://doi.org/10.1039/C5RA22751H>
15. Liang, Z., Li, W., Yang, S., Du, P. (2010). Extraction and structural characteristics of extracellular polymeric substances (EPS), pellets in autotrophic nitrifying biofilm and activated sludge. *Chemosphere*, 81(5), 626–632. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.03.043>
16. Hegedus, A., Barbu-Tudoran, L., Druga, B., Coman, C., Nicoara, A., Nagy, T.S. et al. (2012). *Desmodesmus communis* (Chlorophyta) from Romanian freshwaters: coenobial morphology and molecular taxonomy based on the ITS2 of new isolates. *Annals of the Romanian Society for Cell Biology*, 17(1), 16–28.
17. Bobrov, Z., Tracton, I., Taunton, K., Mathews, M. (2008). Effectiveness of whole dried *Dunaliella salina* marine microalgae in the chelating and detoxification of toxic minerals and heavy metals. *The Journal of Alternative and Complementary Medicine*, 14, 8–9.
18. Boussiba, S. (2000). Carotenogenesis in the green alga *Haematococcus pluvialis*: cellular physiology and stress response. *Physiologia Plantarum*, 108(2), 111–117. <https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.2000.108002111.x>
19. Cao, M., Kang, J., Gao, Y., Wang, X., Pan, X., Liu, P. (2020). Optimization of cultivation conditions for enhancing biomass, polysaccharide and protein yields of *Chlorella sorokiniana* by response surface methodology. *Aquaculture Research*, 51(6), 2456–2471. <https://doi.org/10.1111/are.14589>
20. Cardemil, L., Wolk, C. P. (1981). Polysaccharides from the envelopes of heterocysts and spores of the blue-green algae *Anabaena variabilis* and

- Cylindrospermum licheniforme*. *Journal of Phycology*, 17(3), 234–240. <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.1981.tb00845.x>
21. Chakraborty, M., Miao, C., McDonald, A., Chen, S. (2012). Concomitant extraction of bio-oil and value added polysaccharides from *Chlorella sorokiniana* using a unique sequential hydrothermal extraction technology. *Fuel*, 95, 63–70. <https://doi.org/10.1016/j.fuel.2011.10.05>
 22. Chen, X., Song, L., Wang, H., Liu, S., Yu, H., Wang, X. et al. (2019). Partial characterization, the immune modulation and anticancer activities of sulfated polysaccharides from filamentous microalgae *Tribonema* sp. *Molecules*, 24(2), Article 322. <https://doi.org/10.3390/molecules24020322>
 23. Chen, Y., Liu, X., Wu, L., Tong, A., Zhao, L., Liu, B. et al. (2018). Physico-chemical characterization of polysaccharides from *Chlorella pyrenoidosa* and its anti-ageing effects in *Drosophila melanogaster*. *Carbohydrate Polymers*, 185, 120–126. <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.12.077>
 24. Chen, Y. Lin, H., Li, Z., Mou, Q. (2015). The anti-allergic activity of polyphenol extracted from five marine algae. *Journal of Ocean University of China*, 14(4), 681–684. <https://doi.org/10.1007/s11802-015-2601-5>
 25. Chen, Y.-X., Liu, X.-Y., Xiao, Z., Huang, Y.-F., Liu, B. (2016). Antioxidant activities of polysaccharides obtained from *Chlorella pyrenoidosa* via different ethanol concentrations. *International Journal of Biological Macromolecules*, 91, 505–509. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.05.086>
 26. Conte, M. V., Pore, R. S. (1973). Taxonomic implications of *Prototheca* and *Chlorella* cell wall polysaccharide characterization. *Archiv für Mikrobiologie*, 92(3), 227–233. <https://doi.org/10.1007/BF00411203>
 27. Costa, J. A. V., Lucas, B. F., Alvarenga, A. G. P., Moreira, J. B., de Moraes, M. G. (2021). Microalgae polysaccharides: An overview of production, characterization, and potential applications. *Polysaccharides*, 2(4), 759–772. <https://doi.org/10.3390/polysaccharides2040046>
 28. de Macedo Dantas, D. M., de Oliveira, C. Y. B., Costa, R. M. P. B., Carneiro-da-Cunha, M. D. G., Gálvez, A. O. et al. (2019). Evaluation of antioxidant and antibacterial capacity of green microalgae *Scenedesmus subspicatus*. *Food Science and Technology International*, 25(4), 318–326. <https://doi.org/10.1177/1082013218825024>
 29. de Jesus, C. S., de Jesus Assis, D., Rodriguez, M. B., Filho, J. A. M., Costa, J. A. V., de Souza Ferreira, E. et al. (2019). Pilot-scale isolation and characterization of extracellular polymeric substances (EPS) from cell-free medium of *Spirulina* sp. LEB-18 cultures under outdoor conditions. *International Journal of Biological Macromolecules*, 124, 1106–1114. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.12.016>
 30. de Moraes, M. G., da Silva Vaz, B., Greque de Moraes, E. G., Costa, J. A. V. (2015). Biologically active metabolites synthesized by microalgae. *BioMed Research International*, 2015, Article 835761. <https://doi.org/10.1155/2015/835761>
 31. Deamici, K. M., de Moraes, M. G., Santos, L. O., Muylaert, K., Gardarin, C., Costa, J. A. V. et al. (2021). Static magnetic fields effects on polysaccharides production by different microalgae strains. *Applied Sciences*, 11(11), Article 5299. <https://doi.org/10.3390/app11115299>
 32. Decamp, A., Michelo, O., Rabbat C., Laroche, C., Grizeau, D., Pruvost, J. et al. (2021). A new, quick, and simple protocol to evaluate microalgae polysaccharide composition. *Marine Drugs*, 19(2), Article 101. <https://doi.org/10.3390/md19020101>

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ	AUTHOR INFORMATION
Принадлежность к организации	Affiliation
<p>Сухих Станислав Алексеевич — доктор технических наук, доцент, заведующий лабораторией, Балтийский Федеральный университет им. И. Канта 236041, Калининград, ул. А. Невского, 14 Тел.: +7-960-903-62-81 E-mail: stas-asp@mail.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0001-7910-8388</p>	<p>Stanislav A. Sukhikh, Doctor of Technical Sciences., Docent, Head of Laboratory, Immanuel Kant Baltic Federal University 14, A. Nevsky str., 236041, Kaliningrad, Russia Tel.: +7-960-903-62-81 E-mail: stas-asp@mail.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0001-7910-8388</p>
<p>Долганюк Вячеслав Федорович — кандидат технических наук, научный сотрудник, Институт живых систем, Балтийский Федеральный университет им. И. Канта 236041, Калининград, ул. А. Невского, 14 Тел.: +7-961-707-24-53 E-mail: dolganuk_vf@mail.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0003-0603-7456</p>	<p>Vyacheslav F. Dolganyuk, Candidate of Technical Sciences, Researcher, Institute of Living Systems, Immanuel Kant Baltic Federal University 14, A. Nevsky str., 236041, Kaliningrad, Russia Tel.: +7-961-707-24-53 E-mail: dolganuk_vf@mail.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0003-0603-7456</p>
<p>Кремлева Ольга Евгеньевна — кандидат сельскохозяйственных наук, доцент кафедры экологии, Гродненский государственный университет имени Янки Купалы 230023, Республика Беларусь, Гродно, ул. Ожешко, 22 Тел.: +7-904-960-92-73 E-mail: omor@grsu.by ORCID: https://orcid.org/0000-0003-2012-2438</p>	<p>Olga E. Kremleva, Candidate of Agricultural Sciences, Docent, Department of Ecology, Yanka Kupala State University of Grodno 22, Ozheshko str., 230023, Grodno, Belarus Tel.: +7-904-960-92-73 E-mail: omor@grsu.by ORCID: https://orcid.org/0000-0003-2012-2438</p>
<p>Ульрих Елена Викторовна — доктор технических наук, заместитель директора Института агроинженерии и пищевых систем по научной и международной деятельности, Калининградский государственный технический университет 236022, Калининград, проспект Советский, 1 Тел.: +7-904-960-94-96 E-mail: elen.ulrich@mail.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0003-4107-7277 * автор для контактов</p>	<p>Elena V. Ulrikh, Doctor of Technical Sciences, Deputy Director of the Institute of Agroengineering and Food Systems for Scientific and International Activities, Kaliningrad State Technical University 1, Prospekt Sovetskiy, 236022, Kaliningrad, Russia Tel.: +7-904-960-94-96 E-mail: elen.ulrich@mail.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0003-4107-7277 * corresponding author</p>
<p>Каширских Егор Владимирович — кандидат технических наук, научный сотрудник, Институт живых систем, Балтийский Федеральный университет им. И. Канта 236041, Калининград, ул. А. Невского, 14 Тел.: +7-923-504-23-23 E-mail: egorkah@mail.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0003-0442-5471</p>	<p>Egor V. Kashirskikh, Candidate of Technical Sciences, Researcher, Institute of Living Systems, Immanuel Kant Baltic Federal University 14, A. Nevsky str., 236041, Kaliningrad, Russia Tel.: +7-923-504-23-23 E-mail: egorkah@mail.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0003-0442-5471</p>
<p>Бабич Ольга Олеговна — доктор технических наук, доцент, директор Научно-образовательного центра, Балтийский Федеральный университет им. И. Канта 236041, г. Калининград, ул. А. Невского, 14 Тел.: +7-906-922-09-92 E-mail: olich.43@mail.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0002-4921-8997</p>	<p>Olga O. Babich, Doctor of Technical Sciences, Docent, Director of the Scientific and Educational Center, Immanuel Kant Baltic Federal University 14, A. Nevsky str., 236041, Kaliningrad, Russia Tel.: +7-906-922-09-92 E-mail: olich.43@mail.ru ORCID: http://orcid.org/0000-0002-4921-8997</p>
Критерии авторства	Contribution
Авторы в равных долях имеют отношение к написанию рукописи и одинаково несут ответственность за плагиат.	Authors equally relevant to the writing of the manuscript, and equally responsible for plagiarism.
Конфликт интересов	Conflict of interest
Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.	The authors declare no conflict of interest.