

ISSN 1029-8940 (print)

УДК 579.222

Поступила в редакцию 28.07.2017

Received 28.07.2017

Е. В. Вязов, Е. Е. Мананкина, Е. А. Филипчик, Р. Г. Гончарик, Н. В. Шалыго*Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь***ПРОДУКТИВНОСТЬ И ПИГМЕНТНЫЙ КОМПЛЕКС
СИНЕ-ЗЕЛЕННОЙ ВОДОРОСЛИ *SPIRULINA PLATENSIS* ПРИ ЧАСТИЧНОЙ ЗАМЕНЕ
БИКАРБОНАТА НАТРИЯ НА ГИДРОКСИД НАТРИЯ
В СРЕДЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ**

Аннотация. Изучены продуктивность и содержание хлорофилла *a*, каротиноидов и фикоцианина в биомассе сине-зеленой водоросли спирулины (*Spirulina platensis*) при частичной замене NaHCO_3 на NaOH в среде культивирования. Показано, что замена 25, 50, 65 и 75 % NaHCO_3 (4,2; 5,88; 8,4 и 12,6 г/л) на NaOH (0,05; 0,10; 0,13 и 0,15 г/л соответственно) в питательной среде не влияет на продуктивность водоросли по сравнению с контролем (стандартная питательная среда Заррука, содержащая 16,8 г/л NaHCO_3), а количество хлорофилла *a* и каротиноидов (виолаксантина, лютеина и β -каротина) во всех опытных вариантах остается на уровне контроля. В то же время использование модифицированной питательной среды приводило к снижению количества фикоцианина, который не только является фотосинтетическим пигментом, но и признан одним из наиболее эффективных антиоксидантов. При замене 65 и 75 % NaHCO_3 на NaOH содержание фикоцианина уменьшалось на 16 и 34 % соответственно. Использование гидроксида натрия вместо бикарбоната натрия в среде культивирования позволило существенно снизить затраты на получение биомассы спирулины.

Согласно полученным результатам, показателем качества биомассы спирулины при частичной замене NaHCO_3 на NaOH в питательной среде является уровень таких фотосинтетических пигментов, как хлорофилл *a* или каротиноиды, но не уровень фикоцианина.

Ключевые слова: модифицированная среда Заррука, пигменты, продуктивность, *Spirulina platensis*

Для цитирования: Продуктивность и пигментный комплекс сине-зеленой водоросли *Spirulina platensis* при частичной замене бикарбоната натрия на гидроксид натрия в среде культивирования / Е. В. Вязов [и др.] // Вест. Нац. акад. навук Беларусі. Сер. біял. навук. – 2017. – № 4. – С. 7–12.

Y. V. Viazau, E. E. Manankina, E. A. Filipchik, R. G. Goncharik, N. V. Shalygo*Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus***PRODUCTIVITY AND PIGMENT COMPLEX OF BLUE-GREEN ALGA *SPIRULINA PLATENSIS*
AFTER PARTIAL SUBSTITUTION OF SODIUM BICARBONATE WITH SODIUM HYDROXIDE
IN CULTURE MEDIUM**

Abstract. It has been shown that the partial substitution of NaHCO_3 with NaOH in the culture medium of *Spirulina platensis* does not lead to a change in productivity of the algal culture. Substitution of 25 to 50 % of sodium bicarbonate with sodium hydroxide makes it possible to obtain biomass with a similar content of key pigments as compared to the control (standard Zarrouk medium) while allowing for a significant reduction in the cost of reagents for the preparation of culture medium.

Keywords: modified Zarrouk medium, pigments, productivity, *Spirulina platensis*

For citation: Viazau Y. V., Manankina E. E., Filipchik E. A., Goncharik R. G., Shalygo N. V. Productivity and pigment complex of blue-green alga *Spirulina platensis* after partial substitution of sodium bicarbonate with sodium hydroxide in culture medium. *Vestsi Natsyyanal' nai akademii navuk Belarusi. Seryya biyalagichnych navuk = Proceedings of the National Academy of Sciences of Belarus. Biological series*, 2017, no. 4, pp. 7–12 (in Russian).

Введение. Спирулина относится к сине-зеленым водорослям – цианобактериям. Она является одним из наиболее перспективных микроорганизмов, применяемых в промышленной биотехнологии, так как активно используется в качестве пищевой и кормовой добавки, в производстве косметики, а также в фармакологии. Спирулина содержит белок высокого качества, в состав которого входят незаменимые аминокислоты, пигменты, липиды, ненасыщенные жирные кислоты (в том числе и 3-омега-жирные), витамины, антиоксиданты и другие соединения, обладающие высокой биологической активностью [1–3].

Особенности культивирования спирулины достаточно хорошо изложены в научной литературе [4, 5]. Тем не менее дальнейшие исследования по оптимизации питательной среды для выращи-

вания спирулины продиктованы необходимостью снижения затрат на ее производство. Традиционно культура спирулины выращивается на среде Заррука либо аналогичных питательных средах, содержащих большое количество бикарбоната натрия – NaHCO_3 (в стандартной среде Заррука его содержание составляет 16,8 г/л), используемого в качестве источника углерода и для поддержания щелочной pH, равной 8–10 [6, 7]. Несмотря на наличие научных публикаций, посвященных вопросу уменьшения затрат на среду выращивания путем замены ее отдельных компонентов более дешевыми аналогами либо снижения их содержания в среде [8, 9], исключить использование большого количества бикарбоната натрия либо его источников, как правило, не удается. Ранее предприняты попытки полной замены NaHCO_3 на NaOH [10, 11]. Показано, что для культивирования спирулины достаточно 0,2 г/л NaOH [11], что делает такую модификацию среды экономически выгодной. Однако в подобных условиях для достижения высокой продуктивности водоросли требуется предварительная многочасовая продувка питательной среды CO_2 либо предварительная адаптация культуры к модифицированной среде [10, 11], что усложняет процесс культивирования спирулины и требует дополнительных расходов на реактивы и оборудование.

Цель данной работы – изучение продуктивности водоросли и содержания пигментов в ее биомассе при использовании питательной среды Заррука, в которой бикарбонат натрия частично заменен на гидроксид натрия.

Объект и методы исследования. В опытах использовали спирулину (*Spirulina platensis* IBCE S-2) из альгологической коллекции Института биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси. Суспензию спирулины выращивали в течение 7 сут при температуре 22 ± 2 °C с фотопериодом 14 ч в стандартной среде Заррука (контроль) [6] и в средах Заррука с заменой 25, 50, 65 и 75 % NaHCO_3 на NaOH (табл. 1). Для освещения использовали белые люминесцентные лампы Philips TD-36/765, освещенность на поверхности суспензии составляла 4500 лк. Плотность биомассы в исходной суспензии была одинакова для всех вариантов (0,2 г/л). Все пробы продували атмосферным воздухом в течение фотопериода.

Т а б л и ц а 1. Состав питательной среды (г/л), используемой для культивирования спирулины

Table 1. Composition of the culture medium (g/l) used for cultivation of spirulina

Вариант опыта	NaHCO_3	NaOH
Стандартная среда Заррука (контроль)	16,8	0,00
25 % NaOH	12,6	0,05
50 % NaOH	8,4	0,10
65 % NaOH	5,88	0,13
75 % NaOH	4,2	0,15

П р и м е ч а н и е. За 100 % NaHCO_3 принимали 16,8 г/л (как в среде Заррука), а за 100 % NaOH – 0,2 г/л (исходя из литературных данных [11]).

Продуктивность спирулины определяли по накоплению сухой биомассы в процессе ее роста. Для этого измеряли величину оптической плотности суспензии при 560 нм на спектрофотометре РВ 2201 (SOLAR, Беларусь). Сухую массу рассчитывали, принимая во внимание данные о том, что оптическая плотность культуры спирулины при 560 нм, равная единице, эквивалентна содержанию 699 мг сухой биомассы в 1 л суспензии [12]. Для определения содержания фотосинтетических пигментов (хлорофилла *a* и каротиноидов) в каждом варианте отбирали по 4 мл суспензии спирулины и, предварительно добавив 40 мкл насыщенного раствора CaCl_2 , центрифугировали в течение 10 мин при 13 000 g, используя центрифугу с охлаждением (Sigma, Германия). Осадок очищали от среды культивирования путем ресуспендирования в 4 мл дистиллированной воды с последующим центрифугированием при 17 000 g в течение 10 мин, после чего его переносили в охлажденные (до +4 °C) фарфоровые ступки и растирали с добавлением кварцевого песка в 2 мл 100 %-ного ацетона. Полученный гомогенат центрифугировали как указано выше. Супернатант переносили в мерные пробирки, осадок ресуспендировали в 2 мл 100 %-ного ацетона и снова центрифугировали. Супернатант объединяли с предыдущим. Содержание хлорофилла *a*

и каротиноидов определяли с помощью ВЭЖХ согласно методикам, приведенным в работах [13] и [14], используя хроматограф Shimadzu LC 20 Prominence (Shimadzu, Япония) и колонки Nucleodur C18 Gravity длиной 150 мм и размером частиц 3 мкм (Macherey Nagel, Германия). Перед хроматографией объединенный супернатант, содержащий пигменты, еще раз центрифугировали в течение 10 мин при 13 000 g. Далее в стеклянные виалы вносили по 0,5 мл супернатанта и помещали их в камеру хроматографа. Отбираемый для анализа объем экстракта составлял 40 мкл. Хроматографию проводили при линейном градиенте подвижной фазы 100–0 % раствора А (90 % ацетонитрила с 9,9 % фильтрованной H₂O и 0,1 % триэтиламина) и 0–100 % этилацетата в течение 15 мин, затем при 100 % этилацетата в течение 3 мин, далее – при линейном градиенте подвижной фазы 0–100 % раствора А и 100–0 % этилацетата в течение 6 мин. Поток подвижной фазы составлял 0,5 мл/мин. Пигменты регистрировали детектором с диодной матрицей SPD-M20A Prominence (Shimadzu, Япония) по спектрам поглощения при длине волны от 200 до 700 нм. Для визуализации профиля хроматограммы выделяли спектр поглощения при 440 нм. Площади пиков хроматограммы использовали для количественного определения виолаксантина, лютеина, β-каротина и хлорофилла *a* в биомассе спирулины.

Расчет содержания пигментов производили по формуле

$$C_{\text{пигм}} = S_{440} F_{\text{пигм}} V / (V_{\text{инъекц}} m),$$

где $C_{\text{пигм}}$ – содержание пигмента, мкг/г сухой массы; S_{440} – площадь пика поглощения при 440 нм; $F_{\text{пигм}}$ – коэффициент для расчета (табл. 2); V – суммарный объем экстракта; $V_{\text{инъекц}}$ – объем инъекции (40 мкл), m – сухая масса пробы, г.

Определение содержания фикоцианина в биомассе спирулины проводили согласно методике, описанной в работе [12]. Для этого осажденную путем центрифугирования и промытую дистиллированной водой биомассу водоросли растирали в ступке (без песка) в К-, Na-фосфатном буфере (50 мМ, рН 7,0). Полученный гомогенат выдерживали в холодильнике в течение 10 ч, затем центрифугировали 5 мин при 13 000 g. Супернатант спектрофотометрировали на приборе Uvikon 931 фирмы Kontron (Германия) при 615, 652 и 720 нм и рассчитывали содержание фикоцианина по формуле

$$C = (ОП_{615} - ОП_{720} - 0,474 (ОП_{652} - ОП_{720}))/5,34,$$

где ОП – оптическая плотность экстракта при длине волны 615, 652 и 720 нм соответственно.

В работе приведены средние значения трех независимых опытов и стандартные ошибки их среднего арифметического.

Результаты и их обсуждение. Анализ продуктивности спирулины после 7 сут выращивания на стандартной среде Заррука (контроль) и на среде Заррука с заменой 25, 50, 65 и 75 % NaHCO₃ на NaOH показал, что модификация среды культивирования не влияет на продуктивность водоросли (рис. 1).

При этом содержание хлорофилла *a* и каротиноидов в биомассе спирулины во всех опытных вариантах достоверно не отличалось от контроля (рис. 2). В частности, содержание хлорофилла *a* при замене 25, 50, 65 и 75 % NaHCO₃ на NaOH в среде выращивания составило 104, 97, 102 и 103 % соответственно по отношению к контролю. Отличия от контроля по суммарному количеству каротиноидов составили –7, +2, –1 и +4 % при замене 25, 50, 65 и 75 % NaHCO₃ на NaOH. Уровни отдельных каротиноидов (виолаксантина, лютеина и β-каротина), зарегистрированные в опытных вариантах, практически не отличались от контроля (табл. 3).

Изучено содержание уникального для сине-зеленых водорослей фотосинтетического пигмента – фикоцианина, который является одним из наиболее сильных на сегодняшний день антиоксидантов, при частичной замене NaHCO₃ на NaOH в стандартной питательной среде Заррука [15].

Таблица 2. Коэффициенты для расчета содержания хлорофилла и каротиноидов

Table 2. Coefficients for calculation of chlorophyll and carotenoid contents

Пигмент	Коэффициент
Виолаксантин	44·10 ⁻⁹
Лютеин	45·10 ⁻⁹
Хлорофилл <i>a</i>	189·10 ⁻⁹
β-каротин	88·10 ⁻⁹

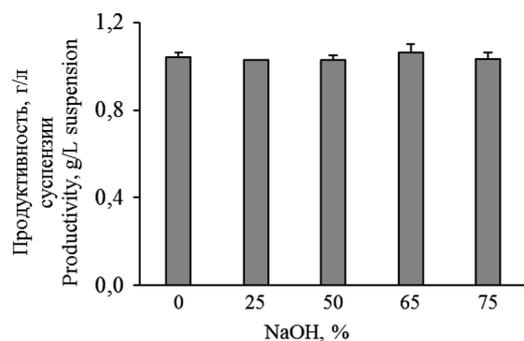


Рис. 1. Продуктивность спирулины при частичной замене NaHCO_3 на NaOH в среде культивирования

Fig. 1. Spirulina productivity in case of partial substitution of NaHCO_3 for NaOH in culture medium

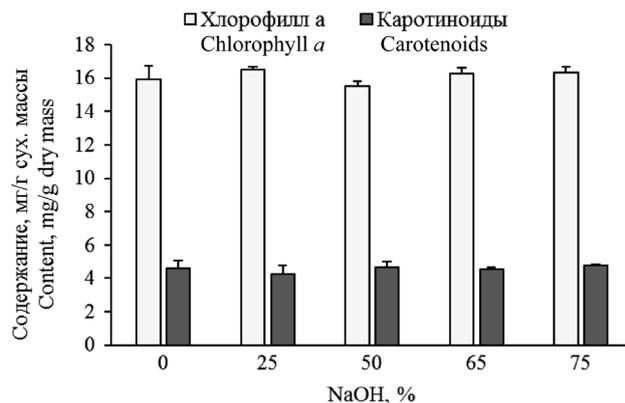


Рис. 2. Содержание хлорофилла a и каротиноидов в биомассе спирулины при частичной замене NaHCO_3 на NaOH в среде культивирования

Fig. 2. Chlorophyll and carotenoid contents in spirulina biomass in case of partial substitution of NaHCO_3 for NaOH in culture medium

Таблица 3. Содержание каротиноидов (мг/г сухой массы) в биомассе спирулины при частичной замене NaHCO_3 на NaOH в среде культивирования

Table 3. Carotenoid contents (mg/g dry mass) in spirulina biomass in case of partial substitution of NaHCO_3 for NaOH in culture medium

Вариант опыта	Виолаксантин	Лютеин	β -каротин
Контроль	$0,06 \pm 0,02$	$0,76 \pm 0,06$	$3,77 \pm 0,42$
25 % NaOH	$0,07 \pm 0,01$	$0,79 \pm 0,10$	$3,40 \pm 0,42$
50 % NaOH	$0,09 \pm 0,02$	$0,88 \pm 0,13$	$3,70 \pm 0,22$
65 % NaOH	$0,07 \pm 0,01$	$0,82 \pm 0,06$	$3,66 \pm 0,14$
75 % NaOH	$0,07 \pm 0,02$	$0,82 \pm 0,04$	$3,88 \pm 0,07$

Показано, что при замене 25, 50, 65 и 75 % NaHCO_3 на NaOH в питательной среде содержание фикоцианина в биомассе спирулины снижалось на 12, 5, 16 и 34 % соответственно по сравнению с контролем (рис. 3).

Точный механизм влияния модифицированной питательной среды, в которой NaHCO_3 заменен на NaOH , на содержание фикоцианина в биомассе водоросли остается неясным. Фикоцианин – это пигмент-белковый комплекс, который состоит из хромофора (фикобилина – линейного тетрапиррола) и водорастворимого белка. Известно, что линейные тетрапирролы синтезируются в водорослях в результате окислительного разрыва замкнутого порфиринового кольца гема [16], в основе которого лежит протопорфирин IX – общий предшественник гема и хлорофилла.

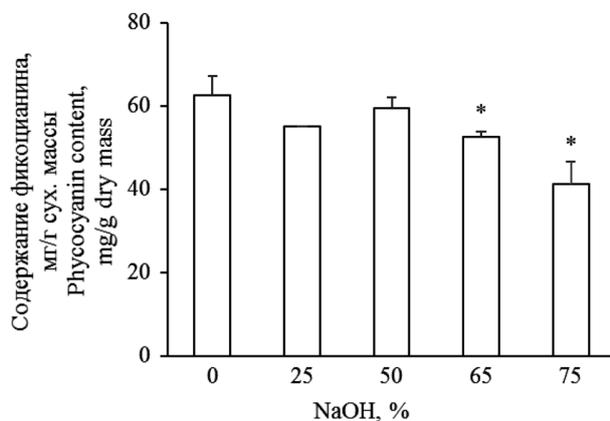


Рис. 3. Содержание фикоцианина в биомассе спирулины при частичной замене NaHCO_3 на NaOH в среде выращивания

Fig. 3. Phycocyanin contents in spirulina biomass in case of partial substitution of NaHCO_3 for NaOH in culture medium

Тот факт, что замена NaHCO_3 на NaOH в среде культивирования приводит к снижению уровня фикоцианина и при этом не влияет на количество хлорофилла a , позволяет сделать вывод о том, что в таких условиях происходит нарушение биосинтеза фикоцианина на этапах, следующих за образованием гема. Не исключено также влияние модификации питательной среды на синтез белка, участвующего в образовании фикоцианина.

Заключение. Таким образом, выращивание культуры в течение 7 сут на среде с заменой

25, 50, 65 и 75 % NaHCO_3 (4,2; 5,88; 8,4 и 12,6 г/л) на NaOH (0,05; 0,10; 0,13 и 0,15 г/л соответственно) в питательной среде не приводит к изменению продуктивности водоросли по сравнению с использованием стандартной питательной среды Заррука (контроль), содержащей 16,8 г/л NaHCO_3 . Показано, что в таких условиях содержание фотосинтетических пигментов – хлорофилла *a* и каротиноидов (виолаксантина, лютеина и β -каротина) в биомассе спирулины остается на уровне контроля. Установлено, что культивирование водоросли в модифицированной питательной среде приводит к снижению количества дополнительного фотосинтетического пигмента фикоцианина, являющегося сильным антиоксидантом. При замене 65–75 % NaHCO_3 на NaOH уменьшение уровня фикоцианина достигало 16 и 34 % соответственно относительно контроля. Необходимо отметить, что стоимость NaHCO_3 , используемой для приготовления 1 л питательной среды при культивировании спирулины, превышает стоимость требуемой для этих целей NaOH в 50 раз. Следовательно, любая частичная замена NaHCO_3 на NaOH позволит существенно снизить затраты на получение биомассы водоросли. Такая модифицированная среда может быть использована для получения биомассы спирулины в случаях, когда показателем ее качества служит содержание каротиноидов или хлорофилла *a*. Например, питательная среда с частичной заменой NaHCO_3 на NaOH может быть использована для получения биомассы спирулины как сырья для фармацевтической промышленности, когда биомасса водоросли выступает как источник хлорофилла *a* (другие пигменты рассматриваются как примесь), из которого затем получают хлорин e_6 – действующее вещество препарата фотодинамического действия, применяемого для лечения заболеваний глаз и некоторых онкологических заболеваний.

Благодарности. Работа выполнена в рамках Государственной программы Республики Беларусь «Наукоёмкие технологии и техника» (грант № 33, 2016–2020 гг.).

Acknowledgments. This work was supported by the State Program of the Republic of Belarus “Science-intensive technologies and equipment”, grant no. 33 (2016–2020).

Список использованных источников

1. Current knowledge on potential health benefits of Spirulina / A. Belay [et al.] // J. of Appl. Phycology. – 1993. – Vol. 5. – P. 235–241.
2. Henrikson, R. Earth Food Spirulina : How this remarkable blue-green algae can transform your health and our planet / R. Henrikson. – California, USA : Ronore Interprises Inc., 1989. – 180 p.
3. Santillan, C. Mass production of Spirulina / C. Santillan // Experientia. – 1982. – Vol. 38, N 1/3. – P. 40–43.
4. *Spirulina platensis (Arthrospira)*: physiology, cell-biology and biotechnology / ed. A. Vonshak. – London : Taylor & Francis Ltd, 1997. – 233 p.
5. Мельников, С. С. Спирулина : справ. пособие в вопросах и ответах / С. С. Мельников ; ред. И. Д. Волотовский ; рец.: Л. Г. Емельянов, А. И. Заболотный ; Нац. акад. наук Беларуси, Ин-т биофизики и клеточной инженерии. – Минск : Право и экономика, 2005. – 51 с.
6. Zarrouk, C. Contribution à l'étude d'une cyanophycée: influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la croissance et la photosynthèse de *Spirulina maxima* : Ph. D. thesis / C. Zarrouk. – Paris, 1966. – 138 p.
7. The effect of sodium bicarbonate supplementation on growth and biochemical composition of marine microalgae cultures / D. A. White [et al.] // J. of Appl. Phycology. – 2013. – Vol. 25. – P. 153.
8. Madkour, F. F. Production and nutritive value of *Spirulina platensis* in reduced cost media / F. F. Madkour, A. E. Kamil, H. S. Nasr // Egypt. J. of Aquatic Res. – 2012. – Vol. 38. – P. 51–57.
9. Pumas, P. Cultivation of *Arthrospira (Spirulina) platensis* using low cost medium supplemented with lac wastewater / P. Pumas, C. Pumas // Chiang Mai J. of Sci. – 2016. – Vol. 43, N 5. – P. 1037–1047.
10. Cost-efficient cultivation of *Spirulina platensis* by chemical absorption of CO_2 into medium containing NaOH / J.-Y. Jung [et al.] // Korean J. of Chem. Engineering. – 2015. – Vol. 32. – P. 2285–2289.
11. Бородина, А. В. Способ культивирования *Spirulina (Arthrospira) platensis* / А. В. Бородина, И. Н. Гудвилевич // Экология моря. – 2005. – Вып. 70. – С. 20–23.
12. Promotive effect of 5-aminolevulinic acid on the growth and photosynthesis of *Spirulina platensis* / K. Sasaki [et al.] // J. of Fermentation and Bioengineering. – 1995. – Vol. 79, N 5. – P. 453–457.
13. The identification of chlorophyll and its derivatives in the pigment mixtures: HPLC-chromatography, visible and mass spectroscopy studies / S. V. Milenković [et al.] // Advanced Technologies. – 2012. – Vol. 1. – P. 16–24.
14. Forni, E. HPLC separation and fluorimetric estimation of chlorophylls and pheophytins in fresh and frozen peas / E. Forni, M. Ghezzi, A. Polesello // Chromatography. – 2012. – Vol. 1. – P. 120–124.
15. C-Phycocyanin: a biliprotein with antioxidant, anti-inflammatory and neuroprotective effects / C. Romay [et al.] // Curr. Protein and Peptide Sci. – 2003. – Vol. 4, N 3. – P. 207–216.
16. Avissar, Y. J. The common origins of the pigments of life – early steps of chlorophyll biosynthesis / Y. J. Avissar, P. A. Möberg // Photosynthesis Res. – 1995. – Vol. 44. – P. 221–242.

References

1. Belay A., Ota Y., Miyakawa K., Shimamatsu H. Current knowledge on potential health benefits of Spirulina. *Journal of Applied Phycology*, 1993, vol. 5, pp. 235–241.
2. Henrikson R. *Earth Food Spirulina*. California, USA, Ronore Interprises Inc., 1989. 180 p.
3. Santillan C. Mass production of Spirulina. *Experientia*, 1982, vol. 38, no. 1/3, pp. 40–43.
4. *Spirulina platensis (Arthrospira): physiology, cell-biology and biotechnology*, in Vonshak A. (ed.). London, Taylor & Francis Ltd, 1997. 233 p.
5. Mel'nikov S. S. *Spirulina: reference book of questions and answers*, in Volotovskii I. D. (ed.), National Academy of Sciences of Belarus, Institute of Biophysics and Cell Engineering. Minsk, Law and Economics, 2005. 51 p. (in Russian).
6. Zarrouk C. *Contribution à l'étude d'une cyanophycée: influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la croissance et la photosynthèse de Spirulina maxima*. Ph. D. thesis. Paris, 1966. 138 p.
7. White D. A., Pagarette A., Rooks P., Ali S. T. The effect of sodium bicarbonate supplementation on growth and biochemical composition of marine microalgae cultures. *Journal of Applied Phycology*, 2013, vol. 25, pp. 153–165.
8. Madkour F. F., Kamil A. E., Nasr H. S. Production and nutritive value of *Spirulina platensis* in reduced cost media. *Egyptian Journal of Aquatic Research*, 2012, vol. 38, pp. 51–57.
9. Pumas P., Pumas C. Cultivation of *Arthrospira (Spirulina) platensis* using low cost medium supplemented with lac wastewater. *Chiang Mai Journal of Science*, 2016, vol. 43, no. 5, pp. 1037–1047.
10. Jung J.-Y., Yang J.-W., Kim K., Hwang K.-T., Jung S. M., Kwon J. H. Cost-efficient cultivation of *Spirulina platensis* by chemical absorption of CO₂ into medium containing NaOH. *Korean Journal of Chemical Engineering*, 2015, vol. 32, pp. 2285–2289.
11. Borodina A. V., Gudvilovich I. N. Spirulina (*Arthrospira*) *platensis* cultivation method. *Ekologiya moria* [Sea ecology], 2005, rel. 70, pp. 20–23 (in Russian).
12. Sasaki K., Marquez F. J., Nishio N., Nagai S. Promotive effect of 5-aminolevulinic acid on the growth and photosynthesis of *Spirulina platensis*. *Journal of Fermentation and Bioengineering*, 1995, vol. 79, no. 5, pp. 453–457.
13. Milenković S. V., Zvezdanović J. B., Anđelković T. D., Marković D. Z. The identification of chlorophyll and its derivatives in the pigment mixtures: HPLC-chromatography, visible and mass spectroscopy studies. *Advanced Technologies*, 2012, vol. 1, pp. 16–24.
14. Forni E., Ghezzi M., Polesello A. HPLC separation and fluorimetric estimation of chlorophylls and pheophytins in fresh and frozen peas. *Chromatography*, 2012, vol. 1, pp. 120–124.
15. Romay C., González R., Ledón N., Remirez D., Rimbau V. C-Phycocyanin: a biliprotein with antioxidant, anti-inflammatory and neuroprotective effects. *Current Protein and Peptide Science*, 2003, vol. 4, no. 3, pp. 207–216.
16. Avissar Y. J., Möberg P. A. The common origins of the pigments of life – early steps of chlorophyll biosynthesis. *Photosynthesis Research*, 1995, vol. 44, pp. 221–242. DOI: 10.1007/BF00048596

Информация об авторах

Вязов Евгений Викторович – мл. науч. сотрудник. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: viazau@yahoo.com.

Мананкина Елена Евгеньевна – канд. биол. наук, науч. сотрудник. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: room454@mail.ru.

Гончарик Руслан Геннадьевич – мл. науч. сотрудник. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: rusgon@mail.ru.

Филипчик Елена Александровна – стажер мл. науч. сотрудника. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: lenafil050494@mail.ru.

Шалыго Николай Владимирович – член-корреспондент, д-р биол. наук, заведующий лабораторией. Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси (ул. Академическая, 27, 220072, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: shalygo@ibp.org.by.

Information about the authors

Yauhen V. Viazau – Junior researcher. Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: viazau@yahoo.com.

Elena E. Manankina – Ph. D. (Biol.), Researcher, Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: room454@mail.ru.

Ruslan G. Goncharik – Junior researcher. Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: rusgon@mail.ru.

Elena A. Filipchik – Junior researcher trainee. Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: lenafil050494@mail.ru.

Nikolai V. Shalygo – Corresponding Member, D. Sc. (Biol.), Head of the Laboratory. Institute of Biophysics and Cell Engineering of the National Academy of Sciences of Belarus (27, Akademicheskaya Str., 220072, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: shalygo@ibp.org.by.