

УДК 582.261.1:551.464.6

**ЭФФЕКТИВНОСТЬ ФИКСАЦИИ УГЛЕРОДА В БИОМАССЕ
CYLINDROTHECA CLOSTERIUM (EHRENBERG) REIMANN & J. C. LEWIN
(BACILLARIOPHYCEAE)
В УСЛОВИЯХ НАКОПИТЕЛЬНОГО КУЛЬТИВИРОВАНИЯ**

© 2020 г. Р. Г. Геворгиз, С. Н. Железнова

Федеральный исследовательский центр «Институт биологии южных морей имени А. О. Ковалевского РАН»,
Севастополь, Российская Федерация
E-mail: r.gevorgiz@yandex.ru

Поступила в редакцию 24.10.2019; после доработки 28.01.2020;
принята к публикации 27.03.2020; опубликована онлайн 31.03.2020.

Эффективность утилизации углерода является важной характеристикой объекта культивирования. Известно, что диатомовая водоросль *Cylindrotheca closterium* (Ehrenberg) Reimann & J. C. Lewin может эффективно использовать углерод из водной среды, так как имеет множество уникальных карбоангидраз и углеродных транспортёров. Между тем эффективность фиксации углерода для многих видов диатомей в культуре по-прежнему неизвестна. Для её расчёта ряд авторов используют разную терминологию и способы, что приводит к значительным трудностям при сравнении эффективности фиксации углерода в биомассе различных видов микроводорослей. Цели работы: 1) на основе современных представлений о фиксации углерода в биомассе микроводорослей, а также о поглощении неорганического углерода культурой микроводорослей актуализировать используемые в литературе термины и определения; 2) оценить эффективность фиксации углерода в биомассе диатомеи *C. closterium* в условиях накопительного культивирования. Культуру *C. closterium* выращивали при температуре +20 °С в интенсивном режиме на питательной среде RS. В процессе выращивания культуру барботировали воздухом (1,1 л воздуха на 1 л культуры в минуту). Температура воздуха на выходе из суспензии составляла +19 °С, максимальная продуктивность культуры — 1,254 г·л⁻¹·сут⁻¹. По результатам СНН-анализа, доля углерода в сухой биомассе *C. closterium* составляла 23 %. В условиях накопительного культивирования у *C. closterium* эффективность фиксации углерода в биомассе достигла 90 %. По сравнению с другими видами водорослей *C. closterium* характеризуется достаточно высокой эффективностью фиксации CO₂. Так, у зелёных микроводорослей *Chlorella protothecoides* и *Ch. vulgaris* эффективность фиксации CO₂ составляет 20 % и 55,3 % соответственно, у цианобактерии *Spirulina* sp. — 38 %, у красной микроводоросли *Porphyridium purpureum* — 69 %. Отмечено, что для обеспечения прироста 1 г сухой биомассы *C. closterium* в сутки при температуре +19 °С необходимо затратить минимум 0,46 л CO₂, или 1132 л воздуха. Возможно, именно высокая эффективность фиксации углерода, а также низкая доля углерода в биомассе *C. closterium* позволяют объяснить высокие продукционные показатели этого вида. В равных условиях культивирования по свету и обеспеченности углеродом продуктивность *C. closterium* может превышать продуктивность других видов микроводорослей в 5–10 раз. Так, у *Spirulina* sp. продуктивность достигает 0,2 г·л⁻¹·сут⁻¹, у *C. closterium* — 1,254 г·л⁻¹·сут⁻¹.

Ключевые слова: диатомовая водоросль *Cylindrotheca closterium*, культивирование, эффективность фиксации углерода

Морские микроводоросли широко используются в современной биотехнологии в качестве продуцентов ценных биологически активных соединений [11, 14, 20]. Многие виды морских микроводорослей способны синтезировать уникальные пигменты, жирные кислоты, углеводы и другие

соединения [9, 14, 15]. Среди продуцентов ценных веществ в промышленных масштабах особый интерес представляют бентосные диатомовые водоросли, поскольку они характеризуются высокой эффективностью утилизации световой энергии. Кроме того, за счёт повышенного содержания кремния при отсутствии перемешивания они достаточно быстро оседают на дно фотобиореактора, что в значительной мере удешевляет и облегчает сбор урожая [2].

Морская диатомовая водоросль *Cylindrotheca closterium* (Ehrenberg) Reimann & J. C. Lewin, 1964 является одним из наиболее перспективных объектов культивирования для получения ценных полиненасыщенных жирных кислот и фукоксантина в промышленных масштабах. Это обусловлено тем, что *C. closterium* обладает достаточно высокими продукционными показателями [2, 4] и способна накапливать фукоксантин до 2,3–2,6 % сухой массы [18, 21]. Также она характеризуется высоким (до 10 % сухой массы) содержанием полиненасыщенных жирных кислот в биомассе [17, 19].

Углерод, наряду с азотом, является основным компонентом в жизнедеятельности микроводорослей. Обеспеченность углеродом определяет химический состав клеток и скорость биосинтеза продуктов жизнедеятельности, поэтому эффективность его утилизации — важная характеристика объекта культивирования [13]. Диатомовые по сравнению с другими микроводорослями способны достаточно эффективно использовать углерод из водной среды, поскольку имеют множество углеродных транспортёров [12], однако эффективность его фиксации для многих видов диатомей в культуре по-прежнему неизвестна.

Для расчёта эффективности фиксации углерода ряд авторов используют различную терминологию и применяют разные способы [6, 7, 8], что приводит к значительным трудностям при сравнении эффективности фиксации углерода в биомассе различных видов микроводорослей. Цели данной работы: 1) на основе современных представлений о фиксации углерода в биомассе микроводорослей, а также о поглощении неорганического углерода культурой микроводорослей актуализировать используемые в литературе термины и определения; 2) оценить эффективность фиксации углерода в биомассе диатомовой водоросли *C. closterium* в условиях накопительного культивирования.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В работе использовали культуру диатомовой водоросли *Cylindrotheca closterium* из коллекции культур ФИЦ ИнБЮМ. Культуру *C. closterium* выращивали на питательной среде RS [16], увеличив концентрацию каждого компонента в 3 раза [5], при постоянной температуре суспензии (20 ± 1) °С, в режиме накопительного культивирования в фотобиореакторах плоскопараллельного типа с рабочим объёмом 2 л, слоем 5 см, при круглосуточном освещении люминесцентными лампами SE-PIL-1-LF 46W/54-765. Средняя облучённость рабочей поверхности фотобиореактора составляла 150 мкмоль квантов·м⁻²·с⁻¹ (33 Вт·м⁻²). В процессе выращивания культуру барботировали воздухом (1,1 л воздуха на 1 л культуры в минуту) посредством компрессорной установки; температура потока воздуха на выходе из суспензии составляла ($19 \pm 0,5$) °С. Для увеличения растворимости атмосферного CO₂ в культуральной среде использовали насадку-диспергатор. Плотность культуры в начале накопительного культивирования составляла 0,1–0,2 г сухого вещества на 1 л.

Плотность культуры определяли двумя методами: 1) методом йодатной окисляемости [1]; 2) прямым взвешиванием сырой массы *C. closterium* в полипропиленовых пробирках на аналитических весах с погрешностью 0,1 мг после осаждения клеток центрифугированием (1600g в течение 2 минут). Для пересчёта полученных данных на сухую массу использовали коэффициент связи между сухой и сырой массой ($k = 0,1$; $n = 20$). Для определения доли углерода в биомассе суспензию клеток *C. closterium* отбирали на 6-й день эксперимента, центрифугировали 1–2 минуты при 1600g и дважды промывали изотоническим раствором NaCl (9 г·л⁻¹). Затем сырую биомассу высушивали при +105 °С в течение 24 ч до постоянного веса. СНN-анализ образцов сухой биомассы выполняли на анализаторе Flash EA 1112 (Thermo Finnigan, Италия) в ЦКП Российского технологического университета (г. Москва). В качестве стандарта использовали ацетанилид.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Максимальную плотность культуры *C. closterium* ($B_{\max} = 3 \text{ г}\cdot\text{л}^{-1}$) наблюдали на 6-й день эксперимента (рис. 1), а максимальный прирост ($P_{\max} = 1,254 \text{ г}\cdot\text{л}^{-1}\cdot\text{сут}^{-1}$) — на 5-й. По результатам CHN-анализа, доля углерода в сухой биомассе *C. closterium* составляла 23 %.

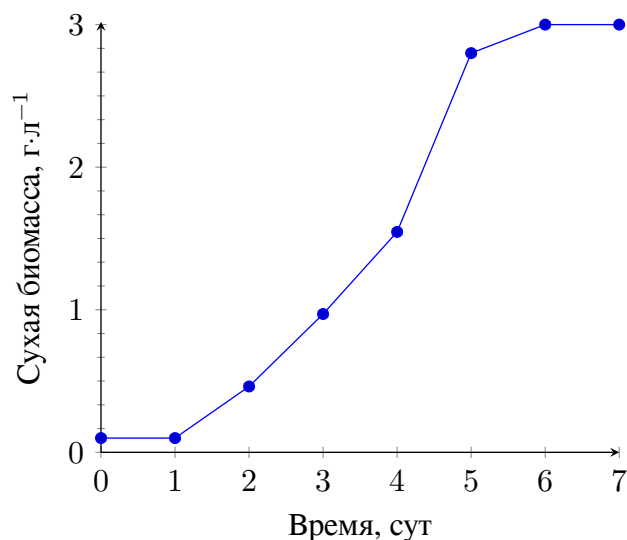


Рис. 1. Динамика плотности накопительной культуры диатомовой водоросли *Cylandrotheca closterium* на питательной среде RS [16]

Fig. 1. Dynamics of density of *Cylandrotheca closterium* batch culture on a nutrient medium RS [16]

Исследованию углеродного питания культур микроводорослей посвящено множество публикаций, при этом авторы оперируют различными терминами, например «связывание углерода», «утилизация углерода», «использование», «ассимиляция», «адсорбция» и пр. [6, 7, 8, 12, 13]. В некоторых случаях это приводит к нечёткости в понимании изучаемых процессов, поэтому для исключения неоднозначности приведём определения терминов, применяемых в данной работе.

Поток неорганического углерода — количество переносимого неорганического углерода за единицу времени. Единицы измерения — моль·с⁻¹, кг·с⁻¹, л·мин.⁻¹.

Плотность потока неорганического углерода — количество углерода, подаваемого в суспензию микроводорослей (на единицу объёма или единицу площади поверхности раздела фаз) за единицу времени. Измеряется в моль·л⁻¹·сут⁻¹, моль·м⁻²·сут⁻¹, г·л⁻¹·сут⁻¹, г·м⁻²·сут⁻¹.

В альгологической практике для обеспечения водорослей углеродом обычно используют смесь воздуха и CO₂, поэтому *плотность потока углерода* выражается в объёме газовой смеси, подаваемой в культуру микроводорослей, на единицу объёма суспензии за одну минуту, и обозначается как коэффициент вентиляции культуры, л·л⁻¹·мин.⁻¹. С учётом молярного объёма газа при заданной температуре поток углерода легко выражается в массовых единицах. Например, при подаче 2%-ной газовой смеси (то есть с учётом доли углерода в воздухе 2,04 % об.) со скоростью 1 л на 1 л суспензии в минуту при температуре +20 °С плотность потока углерода равна 10,2 мг на л суспензии в минуту.

Ассимиляция (связывание, утилизация) неорганического углерода культурой микроводорослей — это совокупность биологических процессов в суспензии микроводорослей, в результате которых неорганический углерод преобразуется в органические вещества. При этом связанный углерод входит в состав органических веществ как самой биомассы, так и экзопродуктов микроводорослей (экзополисахариды, белки и пр.).

Фиксация неорганического углерода культурой микроводорослей — это совокупность процессов ассимиляции углерода и углерод-концентрирующего механизма в клетках микроводорослей. Это означает, что в биомассе, кроме связанного органического углерода, присутствует и некоторое количество неорганического. Если рассматривается фиксация углерода только в биомассе (без учёта экзометаболитов), то скорость фиксации углерода (F_C^b) определяется выражением:

$$F_C^b = c \times P, \quad (1)$$

где c — доля углерода в биомассе;

P — скорость прироста биомассы (продуктивность), $\text{г} \cdot \text{л}^{-1} \cdot \text{сут}^{-1}$.

Поглощение неорганического углерода культурой микроводорослей — это совокупность процессов фиксации и физико-химической абсорбции неорганического углерода (растворимость CO_2 в культуральной среде, образование HCO_3^- и CO_3^{2-}).

Эффективность поглощения углерода культурой микроводорослей — это отношение массы поглощаемого культурой микроводорослей неорганического углерода к массе углерода, подаваемого в суспензию микроводорослей:

$$E_C = (F_0 - F)/F_0 \times 100\%, \quad (2)$$

где F_0 и F — плотность потока углерода на входе в суспензию клеток и на выходе соответственно.

Эффективность фиксации углерода в биомассе микроводорослей — это отношение массы углерода, фиксируемого в биомассе, к массе углерода, подаваемого в суспензию микроводорослей:

$$E_C^b = F_C^b/F_0 \times 100\%, \quad (3)$$

где F_C^b — скорость фиксации углерода в биомассе микроводорослей;

F_0 — плотность потока углерода на входе в суспензию клеток.

В случае, когда для обеспечения культуры неорганическим углеродом используется CO_2 , с учётом (1) скорость фиксации углерода в биомассе ($F_{CO_2}^b$) может быть рассчитана следующим образом:

$$F_{CO_2}^b = M(\text{CO}_2)/M(\text{C}) \times F_C^b = 44/12 \times c \times P, \quad (4)$$

где $M(\text{CO}_2)$ и $M(\text{C})$ — молярная масса углекислоты и углерода соответственно, $\text{г} \cdot \text{моль}^{-1}$.

Из формул (1) и (4) следует предельное соотношение, указывающее на минимальную плотность потока CO_2 ($\text{г} \cdot \text{л}^{-1} \cdot \text{сут}^{-1}$), которая необходима для обеспечения заданной скорости роста микроводорослей:

$$F_C^b = M(\text{C})/M(\text{CO}_2) \times F_{CO_2}^b = c \times P,$$

то есть

$$P = 0,273/c \times F_{CO_2}^b. \quad (5)$$

Для случаев, когда в суспензию подаётся газоздушная смесь с заданным процентом CO_2 , выражение (5) преобразуется в следующее:

$$P = \frac{0,273}{c} \frac{M(\text{CO}_2)}{V_{CO_2}(T)} \frac{\nu}{100} 1440 F_{ГВ}^{\min}, \quad (5a)$$

где $V_{CO_2}(T)$ — молярный объём газа при заданной температуре, $\text{л} \cdot \text{моль}^{-1}$;

ν — доля CO_2 в газоздушной смеси, % об.;

$F_{ГВ}^{\min}$ — минимальная плотность потока газоздушной смеси, необходимая для обеспечения заданной скорости роста микроводорослей, $\text{л} \cdot \text{л}^{-1} \cdot \text{мин}^{-1}$.

При температуре, отличной от +273 °К, объём газа равен:

$$V_{CO_2}(T) = \frac{V_0}{T_0} T = 0,082T, \quad (6)$$

где V_0 — молярный объём газа в нормальных условиях ($V_0 = 22,4$ л·моль⁻¹ при $T_0 = +273$ °К).

С использованием выражений (3), (5a) и (6) можно рассчитать эффективность фиксации углерода в биомассе любых видов культивируемых водорослей по формуле:

$$E_C^6 = \frac{c \times P}{0,273 \frac{M(CO_2)}{0,082T} \frac{\nu}{100} 1440 F_{ГВ}} 100\%, \quad (7)$$

где $F_{ГВ}$ — плотность потока газовой смеси на входе в суспензию клеток, л·л⁻¹·мин.⁻¹.

Применительно к нашему эксперименту с культивированием *C. closterium* в условиях накопительной культуры скорость фиксации углерода с 4-го по 5-й день эксперимента имела следующее значение: $F_C^6 = 0,23 \times 1,254 = 0,29$ г·л⁻¹·сут⁻¹.

Эффективность фиксации углерода в биомассе составила:

$$E_C^6 = \frac{0,23 \times 1,254}{0,273 \frac{44}{0,082 \times (273+19)} \frac{0,0405}{100} 1440 \times 1,1} 100\% \approx 90\%.$$

Для сравнения: у зелёных микроводорослей *Chlorella protothecoides* и *Ch. vulgaris* эффективность фиксации CO₂ в биомассе составляет 20 % и 55,3 % соответственно, у цианобактерий *Spirulina* sp. — 38 % [7, 10], у красной микроводоросли *Porphyridium purpureum* — 69 % [6], то есть по сравнению с другими видами водорослей *C. closterium* характеризуется достаточно высокой эффективностью фиксации CO₂.

Важно отметить, что в расчётах эффективности фиксации углерода культурой микроводорослей многие авторы не учитывают увеличение объёма газа при повышении температуры в соответствии с формулой (6). Обычно используют значения для нормальных условий, хотя условия эксперимента с культурой микроводорослей таковыми не являются; это приводит к ошибочным результатам. Например, если эксперименты с культурой *C. closterium* проведены при +30 °С, а расчёт эффективности фиксации углерода сделан для нормальных условий (0 °С), то полученные значения будут существенно занижены. Это легко проверить, подставив значения температуры в формулу (7). Для нормальной температуры (0 °С) эффективность фиксации углерода E_C^6 составляет 84 %, а для +30 °С — 93 %.

В практике интенсивного культивирования микроводорослей часто возникает необходимость подсчёта затрат CO₂ для получения единицы биомассы. Полагая, что весь углерод, поступающий в суспензию микроводорослей, преобразуется в органическую массу, можно оценить затраты CO₂, используя предельное соотношение (5a). При этом необходимо учесть, что концентрация углекислоты в атмосфере достигла, по данным Всемирной метеорологической организации, в 2018 г. 0,0405 % об. [3].

Таким образом, подставляя данные нашего эксперимента в (5a), мы получаем, что для обеспечения прироста 1 г сухой биомассы *C. closterium* в сутки при температуре +19 °С необходимо затратить минимум 0,46 л CO₂, или 1132 л воздуха.

Заключение. В равных условиях культивирования по свету и обеспеченности углеродом продуктивность *C. closterium* может превышать продуктивность других видов микроводорослей в 5–10 раз. В то время как у *Spirulina* sp. продуктивность достигает 0,2 г·л⁻¹·сут⁻¹, у *C. closterium* она составляет 1,254 г·л⁻¹·сут⁻¹. Возможно, именно высокая эффективность фиксации углерода, а также низкая доля углерода в биомассе *C. closterium* позволяют объяснить высокие продукционные показатели этого вида.

Работа выполнена в рамках государственного задания ФИЦ ИнБЮМ по теме «Исследование механизмов управления продукционными процессами в биотехнологических комплексах с целью разработки научных основ получения биологически активных веществ и технических продуктов морского генезиса» (№ гос. регистрации АААА-А18-118021350003-6) при финансовой поддержке гранта РФФИ № 18-34-00672.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Геворгиз Р. Г., Железнова С. Н., Никонова Л. Л., Бобко Н. И., Нехорошев М. В. Оценка плотности культуры фототрофных микроорганизмов методом йодатной окисляемости. Севастополь, 2015. 31 с. (Препринт / Ин-т морских биологических исследований РАН). [Gevorgiz R. G., Zheleznova S. N., Nikonova L. L., Bobko N. I., Nekhoroshev M. V. *Otsenka plotnosti kul'tury fototrofnykh mikroorganizmov metodom iodatnoi okislyaemosti*. Sevastopol, 2015, 31 p. (Priprint / Kovalevsky Institute of Marine Biological Research of RAS). (in Russ.)]. <https://repository.marine-research.org/handle/299011/43>
2. Геворгиз Р. Г., Железнова С. Н., Зозуля Ю. В., Уваров И. П., Репков А. П., Лелеков А. С. Промышленная технология производства биомассы морской диатомеи *Cylindrotheca closterium* (Ehrenberg) Reimann & Lewin с использованием газовихревого фотобиореактора // *Актуальные вопросы биологической физики и химии*. 2016. № 1–1. С. 73–77. [Gevorgiz R. G., Zheleznova S. N., Zozulya Yu. V., Uvarov I. P., Repkov A. P., Lelekov A. S. Industrial production technology biomass marine diatoms *Cylindrotheca closterium* (Ehrenberg) Reimann & Lewin using gas vortex photobioreactor. *Aktual'nyye voprosy biologicheskoy fiziki i khimii*, 2016, no. 1–1, pp. 73–77. (in Russ.)]
3. Государственный доклад «О состоянии и об охране окружающей среды Российской Федерации в 2018 году». Москва : Минприроды России ; НПП «Кадастр», 2019. 844 с. [*Gosudarstvennyi doklad "O sostoyanii i ob okhrane okruzhayushchei sredy Rossiiskoi Federatsii v 2018 godu"*. Moscow : Minprirody Rossii ; NPP "Kadastr", 2019, 844 p. (in Russ.)]
4. Железнова С. Н. Продукционные характеристики морской диатомовой водоросли *Cylindrotheca closterium* (Ehrenb.) Reimann et Lewin в интенсивной культуре при различных источниках азота в питательной среде // *Морской биологический журнал*. 2019. Т. 4, № 1. С. 33–44. [Zheleznova S. N. Production characteristics of the diatom *Cylindrotheca closterium* (Ehrenb.) Reimann et Lewin grown in an intensive culture at various nitrogen sources in the medium. *Morskoy biologicheskij zhurnal*, 2019, vol. 4, iss. 1, pp. 33–44. (in Russ.)]. <https://doi.org/10.21072/mbj.2019.04.1.04>
5. Железнова С. Н., Геворгиз Р. Г., Бобко Н. И., Лелеков А. С. Питательная среда для интенсивной культуры диатомовой водоросли *Cylindrotheca closterium* (Ehrenb.) Reimann et Lewin – перспективного объекта биотехнологий // *Актуальная биотехнология*. 2015. № 3 (14). С. 46–48. [Zheleznova S. N., Gevorgiz R. G., Bobko N. I., Lelekov A. S. The culture medium for the intensive culture of diatomic alga *Cylindrotheca closterium* (Ehrenb.) Reimann et Lewin – promising biotech facility. *Aktual'naya biotekhnologiya*, 2015, no. 3 (14), pp. 46–48. (in Russ.)]
6. Лелеков А. С., Гудвилевич И. Н., Геворгиз Р. Г., Тренкеншу Р. П., Бадисова А. О. Оценка коэффициента абсорбции углерода культурой *Porphyridium purpureum* (Bory) Ross // *Морские биологические исследования: достижения и перспективы* : в 3-х т. : сб. материалов Всерос. науч.-практ. конф. с междунар. участием, приуроч. к 145-летию Севастопольской биологической станции, Севастополь, 19–24 сентября 2016 г. Севастополь, 2016. Т. 3. С. 404–407. [Lelekov A. S., Gudvilovich I. N., Gevorgiz R. G., Trenkenshu R. P., Badisova A. O. Evaluation of carbon absorption coefficient by *Porphyridium purpureum* (Bory) Ross. In: *Morskie biologicheskie issledovaniya: dostizheniya i perspektivy* : v 3-kh t. : sb. materialov Vseros. nauch.-prakt. konf. s mezhdunar. uchastiem, priuroch. k 145-letiyu Sevastopol'skoi biologicheskoi stantsii, Sevastopol, 19–24 Sept., 2016. Sevastopol, 2016, vol. 3, pp. 404–407. (in Russ.)]
7. Klinthong W., Yang Y.-H., Huang C.-H., Tan C.-S. A review: Microalgae and their applications in CO₂ capture and renewable energy. *Aerosol and Air Quality Research*, 2015, vol. 15, iss. 2, pp. 712–742. <https://doi.org/10.4209/aaqr.2014.11.0299>
8. Kroth P. G., Chiovitti A., Gruber A., Martin-jezequel V., Mock T., Parker M. S., Stanley M. S.,

- Kaplan A., Caron L., Weber T., Maheswari U., Armbrust E. V., Bowler C. A. Model for carbohydrate metabolism in the diatom *Phaeodactylum tricorutum* deduced from comparative whole genome analysis. *PLoS One*, 2008, vol. 3, iss. 1, article e1426. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0001426>
9. Lauritano C., Ferrante M. I., Rogato A. Marine natural products from microalgae: An -omics overview. *Marine Drugs*, 2019, vol. 17, iss. 5, pp. 269 (18 p.). <https://doi.org/10.3390/md17050269>
 10. Liu S., Elvira P., Wang Y., Wang W. Growth and nutrient utilization of green algae in batch and semi-continuous autotrophic cultivation under high CO₂ concentration. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 2019, vol. 188, iss. 3, pp. 836–853. <https://doi.org/10.1007/s12010-018-02940-9>
 11. Martínez Andrade K. A., Lauritano C., Romano G., Ianora A. Marine microalgae with anti-cancer properties. *Marine Drugs*, 2018, vol. 16, iss. 5, pp. 165 (17 p.). <https://doi.org/10.3390/md16050165>
 12. Matsuda Y., Hopkinson B. M., Nakajima K., Dupont C. L., Tsuji Y. Mechanisms of carbon dioxide acquisition and CO₂ sensing in marine diatoms: A gateway to carbon metabolism. *Philosophical Transactions of the Royal Society B*, 2017, vol. 372, pp. 1–12. <https://doi.org/10.1098/rstb.2016.0403>
 13. Obata T., Fernie A. R., Nunes-Nesi A. The central carbon and energy metabolism of marine diatoms. *Metabolites*, 2013, vol. 3, iss. 2, pp. 325–346. <https://doi.org/10.3390/metabo3020325>
 14. Priyadarshani I., Rath B. Bioactive compounds from microalgae and cyanobacteria: Utility and applications. *International Journal of Pharma Sciences and Research*, 2012, vol. 3, iss. 11, pp. 4123–4130. [https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.3\(11\).4123-30](https://doi.org/10.13040/IJPSR.0975-8232.3(11).4123-30)
 15. Quigg A., Finkel Z. V., Irwin A. J., Rosenthal Y., Ho T.-Y., Reinfelder J. R., Schofield O., Morel F. M., Falkowski P. G. The evolutionary inheritance of elemental stoichiometry in marine phytoplankton. *Nature*, 2003, vol. 425, pp. 291–294. <https://doi.org/10.1038/nature01953>
 16. Ryabushko V. I., Zheleznova S. N., Gevorgiz R. G., Bobko N. I., Lelekov A. S. The medium for intensive culture of the diatom *Cylindrotheca closterium* (Ehrenb.) Reimann et Lewin (Bacillariophyta). *International Journal on Algae*, 2016, vol. 18, iss. 3, pp. 279–286. <https://doi.org/10.1615/InterJAlgae.v18.i3.70>
 17. Suman K., Kiran T., Devi U. K., Sarma N. S. Culture medium optimization and lipid of *Cylindrotheca*, a lipid- and polyunsaturated fatty acid-rich pennate diatom and potential source of eicosapentaenoic acid. *Botanica Marina*, 2012, vol. 55, iss. 3, pp. 289–299. <https://doi.org/10.1515/bot-2011-0076>
 18. Wang S., Verma S. K., Said I. H., Thomsen L., Ullrich M. S., Kuhnert N. Changes in the fucoxanthin production and protein profiles in *Cylindrotheca closterium* in response to blue light-emitting diode light. *Microbial Cell Factories*, 2018, vol. 17, article no. 110 (13 p.). <https://doi.org/10.1186/s12934-018-0957-0>
 19. Ying L., Kang-sen M., Shi-chun S. Effects of harvest stage on the total lipid and fatty acid composition of four *Cylindrotheca* strains. *Chinese Journal of Oceanology and Limnology*, 2002, vol. 20, iss. 2, pp. 157–161. <https://doi.org/10.1007/BF02849653>
 20. Zhang H., Tang Y., Zhang Y., Zhang S., Qu J., Wang X., Kong R., Han C., Liu Z. Fucoxanthin: A promising medicinal and nutritional ingredient. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015, Article ID 723515 (10 p.) <http://dx.doi.org/10.1155/2015/723515>
 21. Zheleznova S. N., Gevorgiz R. G., Nekhoroshev M. V. Conditions optimization of the *Cylindrotheca closterium* (Ehrenberg) Reimann et Lewin cultivation in order to obtain a high yield of fucoxanthin. In: *3rd Russian Conference on Medicinal Chemistry*, Kazan, 28 Sept. – 03 Oct., 2017 : Abstr. book. Kazan : Kazan Federal University, 2017, pp. 261.

**THE CARBON FIXATION EFFICIENCY IN BIOMASS
OF *CYLINDROTHECA CLOSTERIUM* (EHRENBERG) REIMANN & J. C. LEWIN
(BACILLARIOPHYCEAE)
UNDER THE CONDITIONS OF CUMULATIVE CULTIVATION**

R. G. Gevorgiz and S. N. Zheleznova

A. O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas of RAS, Sevastopol, Russian Federation
E-mail: r.gevorgiz@yandex.ru

The carbon utilization efficiency is an important characteristic of the cultivated object. Diatom *Cylindrotheca closterium* (Ehrenberg) Reimann & J. C. Lewin is known to use carbon from aquatic environment quite effectively, as it has many unique carbonic anhydrases and carbon transporters. However, the carbon fixation efficiency for many types of diatoms in culture is still unknown. When calculating the carbon fixation efficiency, researchers use different terminology and methods, and it leads to significant difficulties when comparing the carbon fixation efficiency in the biomass of various types of microalgae. The aims of this study are: 1) to update terms and definitions used in literature on the basis of modern concepts of carbon fixation in microalgae biomass, as well as absorption of inorganic carbon by microalgae culture; 2) to evaluate the carbon fixation efficiency in the biomass of *C. closterium* diatom under conditions of cumulative cultivation. *C. closterium* was grown at a temperature of +20 °C on a nutrient medium RS. During the cultivation, the culture was bubbled with air (1.1 L of air per 1 L of culture per minute). The air temperature at the outlet of the suspension was of +19 °C; the maximum productivity of the culture was of 1.254 g·L⁻¹·day⁻¹. According to the results of the CHN analysis, the proportion of carbon in *C. closterium* dry biomass was of 23 %. Under the conditions of cumulative cultivation in *C. closterium*, the carbon fixation efficiency in biomass was of 90 %. Compared with other algae species, *C. closterium* is characterized by a rather high CO₂ fixation efficiency. For example, in green microalga *Chlorella protothecoides* and *Ch. vulgaris*, the CO₂ fixation efficiency was of 20 % and 55.3 %, respectively; in cyanobacteria *Spirulina* sp. – of 38 %; in red microalgae *Porphyridium purpureum* – of 69 %. It was observed that to ensure an increase of 1 g of *C. closterium* dry biomass per day at a temperature of +19 °C, a minimum of 0.46 L of CO₂, or 1132 L of air, should be consumed. Possibly, it is high carbon fixation efficiency, as well as low carbon fraction in *C. closterium* biomass, that explains the high production indices of this species. Under equal conditions of cultivation in terms of light and carbon availability, the productivity of *C. closterium* can exceed the productivity of other types of microalgae by 5–10 times. So, while *Spirulina* sp. productivity reaches 0.2 g·L⁻¹·day⁻¹, *C. closterium* productivity is of 1.254 g·L⁻¹·day⁻¹.

Keywords: diatom *Cylindrotheca closterium*, cultivation, carbon fixation efficiency