

УДК 582.232-119:547.97

**ФАКТОРЫ,
ВЛИЯЮЩИЕ НА КОНЦЕНТРАЦИЮ С-ФИКОЦИАНИНА В КЛЕТКАХ
LIMNOSPIRA PLATENSIS (GOMONT) K. R. S. SANTOS & HENTSCHE
(*SPIRULINA*)
ПРИ РАЗЛИЧНЫХ СРОКАХ ХРАНЕНИЯ В ОБЕЗВОЖЕННОМ СОСТОЯНИИ**

© 2026 г. **И. А. Харчук, Н. М. Береговая, О. А. Рылькова**

ФГБУН ФИЦ «Институт биологии южных морей имени А. О. Ковалевского РАН»,
Севастополь, Российская Федерация
E-mail: seaferm@yandex.ru

Поступила в редакцию 02.07.2024; после доработки 01.08.2025;
принята к публикации 21.11.2025.

Limnospira platensis (Gomont) K. R. S. Santos & Hentschke, 1973 (*Spirulina*) обладает высокой пищевой ценностью: в её состав входит до 70 % белка, а также каротиноиды, витамины группы В, витамин Е и другие питательные вещества и минералы. Оптимальное хранение цианобактерий достигается высушиванием, и в таком виде биомасса долгое время не теряет своих полезных свойств. Кроме того, клетки сохраняют жизнеспособность, переходя в состояние ангидробиоза, что является крайне важным для сохранения биоразнообразия цианопрокариот и микроводорослей в хранилищах. Среди биохимических компонентов *L. platensis* особый интерес вызывает пигмент С-фикоцианин (С-фц), который обладает антиоксидантными, иммуномодулирующими и онкопротекторными свойствами и входит в состав фотосинтезирующих пигментных комплексов цианобактерий. Целью данной работы было определить содержание С-фц в образцах *L. platensis*, сохраняемых в состоянии ангидробиоза от 1 до 19 лет, и выявить основные факторы, влияющие на снижение концентрации пигмента. Использованы стандартные (биохимический и оптический) методы исследования биомассы *L. platensis*, а также микроскопический — для контроля сопутствующей микрофлоры. Максимальное количество С-фц получено при температуре +30 °С (5,6 и 3,4 % для 2-го и 12-го года хранения соответственно). Дегидратация при более высоких температурах, +50 и +60 °С, приводила к снижению содержания пигмента (1,9 и 0,54 % для 2-го и 12-го года хранения соответственно). Чёткой зависимости между уровнем концентрации С-фц и остаточной влажностью не обнаружено, однако в 23 % образцов при высоких значениях температуры дегидратации выявлена повышенная остаточная влажность (12–16 %). Хранение в течение 19 лет, в отличие от хранения в течение 2 лет, характеризовалось доминированием разрушенных трихомов и массовым развитием сопутствующих бактерий. Обнаружено снижение концентрации С-фц и уменьшение варибельности показателя при увеличении сроков хранения образцов. По-видимому, длительность хранения, наряду с температурой и остаточной влажностью, оказывала влияние на концентрацию пигмента. Вероятно, содержание С-фц может рассматриваться как индикатор жизнеспособности клеток *L. platensis*. При переводе цианобактерий в состояние ангидробиоза оптимальны дегидратация при температуре +30 °С и хранение образцов при остаточной влажности 9–11 % (срок — не более 2 лет). Результаты могут быть полезны для сохранения биоразнообразия и получения биомассы, богатой С-фц, в ангидробиозных коллекциях водорослей и цианобактерий.

Ключевые слова: цианобактерии, ангидробиоз, микроводоросли, дегидратация, остаточная влажность, температура, сроки хранения

Среди фототрофов, оказывающих адаптогенное воздействие на организм, заслуженное внимание привлекает цианобактерия *Limnospira platensis* (Gomont) K. R. S. Santos & Hentschke (*Spirulina*), обладающая исключительной пищевой ценностью [Кедик и др., 2010; Soni et al., 2017; *Spirulina platensis*, 1996]. Наряду с белком в высокой концентрации (до 70 %), она содержит почти полный спектр каротиноидов, значительное количество витаминов группы В, витамин Е, эссенциальную гамма-линолевую кислоту и целый ряд микроэлементов [Лось, 2013; Петряков, 2015; Becker, 1993; Choopani et al., 2016; *Spirulina platensis*, 1996]. Среди биохимических компонентов *L. platensis* особый интерес вызывает вспомогательный пигмент С-фикоцианин (далее — С-фц), который представляет собой пигментно-белковый комплекс фикобилипротеинов, поглощающих свет, наряду с аллофикоцианином и фикоэритрином [Chaouachi et al., 2024; Liu et al., 2016; Stadnichuk et al., 2015]. С-фц часто рассматривают как индикатор сохранности клеток, поскольку его концентрация может косвенно указывать на состояние фотосинтетического аппарата цианобактерий [Mróz et al., 2024; *Spirulina platensis*, 1996]. Известно, что С-фц обладает антиоксидантными, иммуномодулирующими и онкопротекторными свойствами [Лось, 2013; Петряков, 2015; Choopani et al., 2016], поэтому при хранении биомассы *L. platensis* возникает необходимость соблюдения условий, обеспечивающих максимальную сохранность пигмента. Дегидратация — самый распространённый способ хранения цианобактерий, при котором биомасса цианопрокариот долгое время не теряет своих полезных свойств. Кроме того, обезвоживание позволяет перевести клетки *L. platensis* в состояние ангидробิโอ́за, что необходимо для сохранения культур микроорганизмов. Изучение содержания С-фц в высушенных клетках *L. platensis* в зависимости от длительности хранения является весьма актуальным, а приведённые в литературе данные крайне фрагментарны.

Целью настоящей работы было определить содержание С-фикоцианина в образцах *Limnospira platensis*, сохраняемых в состоянии ангидробิโอ́за от 1 года до 19 лет, и выявить основные факторы, влияющие на снижение концентрации пигмента.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Растительный материал. Объектом изучения служила альгологически чистая, неаксеничная культура *L. platensis* (штамм IBBS-31) из коллекции ангидробиозных культур отдела биотехнологии и фиторесурсов ФИЦ ИнБЮМ. *L. platensis* переводили в состояние ангидробиоза в разные годы исследований. Максимальная длительность хранения составляла 21 год. Образцы получены как в лабораторных, так и в промышленных условиях культивирования. В качестве питательной среды использована среда Заррука [Faucher et al., 1979]. Всего проанализировано 34 пробы обезвоженных культур *L. platensis*.

Условия культивирования в лаборатории в культиваторах полупромышленного типа. Цианобактерии выращивали в накопительном режиме при постоянном круглосуточном освещении [интенсивность света на поверхности раствора составляла 15 кЛк (люксметр Ю-116, Россия)]. Для удаления избытка кислорода из среды и для равномерного прогрева всего слоя питательного раствора осуществляли автоматическое перемешивание (компрессор поршневой Hailea АСО 308, Китай). Температура среды колебалась в диапазоне +25...+29 °С. По достижении стационарной стадии роста *L. platensis* трихомы отделяли от питательной среды посредством фильтрации через мельничный газ 100–105 ПЭ и промывали дважды двумя объёмами дистиллированной воды. Биомассу наносили на полиэтиленовую плёнку тонким слоем, помещали в термостат (ТС-80М-2, Россия) и обезвоживали при температурных режимах +30, +50 и +60 °С. Время дегидратации составляло от 6 до 20 ч в зависимости от температуры обезвоживания и количества биомассы. Критерием высыхания служило закручивание краёв биомассы внутрь и свободное отсоединение пласта цианобактерий от полиэтиленовой подложки.

Условия хранения образцов. После сушки образцы раскладывали в полиэтиленовые грипперы (зиплок-пакеты), а затем — в пластиковые боксы; далее их помещали в хранилище ангидробиозных культур (температура +18...+20 °С). Срок хранения образцов составлял от 1 до 19 лет.

Биохимические исследования и определение остаточной влажности. С-фц экстрагировали из 0,01–0,05 г сухой биомассы цианобактерий дистиллированной водой (2 мл); процедуру повторяли до получения прозрачного экстракта. Содержание пигмента определяли спектрофотометрическим методом на приборе СФ-2000 (ЛОМО, Россия) и рассчитывали по формуле, приведённой в работах [Воронин и др., 2001; Геворгиз, Нехорошев, 2017]. Показатели содержания С-фц выражены в процентах в пересчёте на сухую массу. Остаточная влажность определена стандартным методом доведения до постоянной массы [Методы физиолого-биохимического исследования, 1975].

Реактивация после состояния ангидробиоза и подготовка суспензии *Limnospira platensis* для исследования с помощью сканирующего электронного микроскопа. Все применяемые растворы перед работой фильтровали через мембранные фильтры с диаметром пор 0,2 мкм (Sartorius, Германия); использовали стерильную посуду. К навеске *L. platensis* (0,01–0,05 г) добавляли 3 мл разбавленной дистиллированной воды среды Заррука (в соотношении 1 : 2) [Патент 2541452, 2015] и оставляли на 1 ч при комнатной температуре для реактивации цианобактерий. Аликвоту суспензии клеток *L. platensis* (1–2 мл) фиксировали 60 мин глутаровым альдегидом до конечной концентрации 2,5 % и осаждали на поликарбонатный фильтр с диаметром пор 0,2 мкм (производство Объединённого института ядерных исследований, Россия). Далее проводили дегидратацию образцов в серии разведений этанола от 20 до 100 % [Bratbak, 1993]. Для сушки образцов в критической точке (1,5–2,5 ч) применяли устройство Leica EM CPD300 (Германия). Для напыления (Au/Pd, 0,5–1,0 мин) использовали прибор Leica EM ACE200. Просмотр и микрофотографирование образцов осуществляли с помощью сканирующего электронного микроскопа Hitachi SU3500 (Япония) при увеличении от 4000× до 6000×.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Влияние температуры на концентрацию С-фикоцианина в образцах *Limnospira platensis*. Для уточнения влияния такого фактора, как температура, на содержание С-фц проанализировано его изменение при различных режимах (+30, +50 и +60 °С). Для исследования были выбраны образцы из одной закладки, хранившиеся 2 года и 12 лет.

Для культуры, пребывающей в состоянии ангидробиоза 2 года, максимальные значения С-фц (5,6 % сухой массы) выявлены при температуре обезвоживания +30 °С. При повышении температуры до +50 и +60 °С, вероятно, происходило первичное разрушение трихомов цианобактерий, поскольку мы зарегистрировали достоверное снижение (непарный *t*-тест, $p < 0,05$) этого показателя в 2,3–2,9 раза (до 2,4 и 1,9 % соответственно). В культуре, пребывающей в состоянии ангидробиоза 12 лет, содержание С-фц в обезвоженной при +30 °С пробе составляло 3,4 % сухой массы; при дегидратации при +50 °С показатель снижался в 1,3 раза (до 2,6 %), при +60 °С — в 6,8 раза (0,5 %) относительно пробы, высушенной при +30 °С. Таким образом, в пробах, сохраняемых в течение 2 и 12 лет, наблюдали тенденцию сокращения С-фц при увеличении температуры обезвоживания (рис. 1а, б).

Для образцов, хранящихся дольше (17, 19 и 21 год), обнаружены более низкие и достоверно не отличающиеся (непарный *t*-тест, $p > 0,05$) средние показатели содержания С-фц — 1,86 и 1,97 % для температур +30 и +50 °С соответственно. При +60 °С количество фикоцианина снижалось в 3,8 раза; в среднем значение составило 0,54 %.

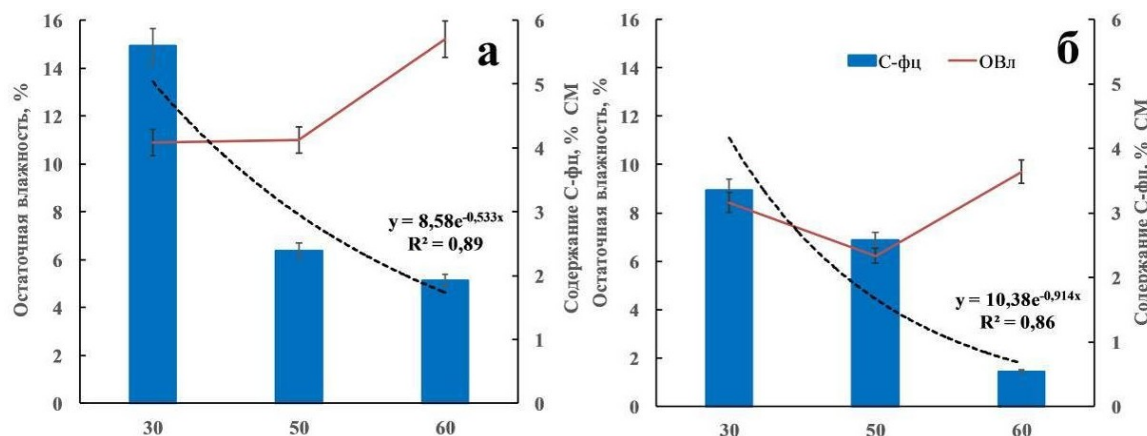


Рис. 1. Зависимость концентрации С-фикоцианина и остаточной влажности от температуры обезвоживания образцов *Limnospira platensis* при различных сроках хранения: а — 2 года; б — 12 лет. Пунктиром показана линия тренда

Fig. 1. Dependence of C-phycoerythrin concentration and residual moisture on the dehydration temperature of *Limnospira platensis* samples at different storage periods: а, 2 years; б, 12 years. The dotted line shows the trend

Ранее было указано, что с целью обеспечения жизнеспособности цианобактерий (после состояния ангидробриоза) и оптимального сохранения биохимических компонентов необходимо проводить дегидратацию в температурном диапазоне +30...+60 °С [Патент 2541452, 2015; Харчук, 2018]. Однако для максимальной сохранности С-фц, как оказалось, наиболее приемлемым было обезвоживание при +30 °С, причём для образцов, хранящихся как 2 года (что соответствует срокам хранения промышленных препаратов *L. platensis*), так и 12 лет. Известно, что температура дегидратации +30 °С соответствует физиологическому оптимуму роста цианобактерий. Например, при таком режиме обезвоживания не было обнаружено изменений в составе липидов, тогда как при дегидратации при +60 и +70 °С наблюдали увеличение содержания ненасыщенных жирных кислот, что способствовало повышению устойчивости мембран и, вероятно, являлось ответом на негативное температурное воздействие [Харчук, Копытов, 2005]. Согласно [Ефимов, 2007; Liu et al., 2016; Spirulina platensis, 1996], при увеличении температуры до значений более +50...+60 °С концентрация С-фц снижалась, а при +70 °С пигмент разрушался, по-видимому из-за процессов деструкции, начинающихся в белковой части фикобилипротеинов. Это согласуется с нашими данными.

Таким образом, нами подтверждено, что температура обезвоживания являлась важным фактором, влияющим на содержание С-фц в клетках *L. platensis*. Оптимальной для сохранения С-фц была температура дегидратации +30 °С; обезвоживание при более высоких значениях приводило, вероятно, к термической деструкции пигмента во время сушки.

Влияние остаточной влажности на содержание С-фикоцианина в образцах *Limnospira platensis*. Выше указано: при температуре обезвоживания +60 °С для 2-го и 12-го года исследований обнаружены максимальные величины остаточной влажности (далее — ОВл) (15,2 и 9,7 % соответственно) и минимальное содержание С-фц (см. рис. 1). Для более длительно хранящихся образцов ОВл при этой температуре также была высокой (9,16 %). За весь период исследований значение ОВл изменялось в пределах 6,9–15,4 %. Чёткой зависимости ОВл сохраняемых культур от температуры дегидратации не установлено, но для всего массива данных выявлено: наиболее часто повышенную влажность (12–15,2 %) отмечали в образцах, которые были обезвожены при высоких температурах (23 % от общей выборки) (рис. 2). Интересно, что пониженную влажность (6,6–8,54 %) регистрировали в 47,4 % образцов при их длительном хранении (более 12 лет).

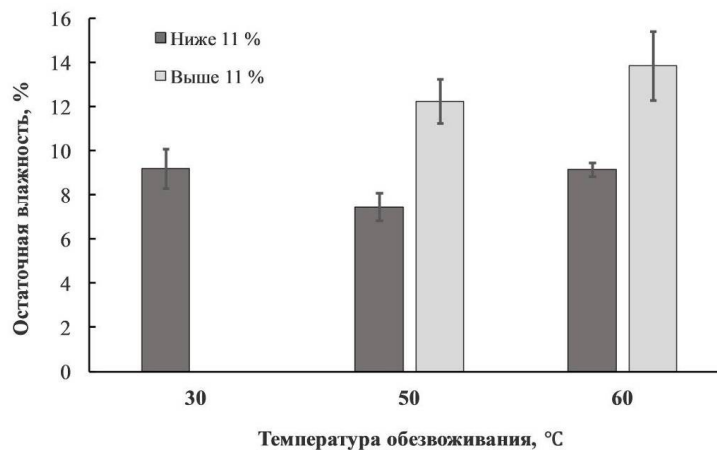


Рис. 2. Показатели остаточной влажности в образцах *Limnospira platensis* при разной температуре дегидратации

Fig. 2. Parameters of residual moisture in *Limnospira platensis* samples at different dehydration temperature

Во время дегидратации сначала удаляется свободная вода, при этом концентрация внутриклеточных компонентов возрастает в 2–5 раз. Позднее происходит удаление связанной (структурной) воды, которая и определяет ОВл. Связанная вода переходит в гелеобразное состояние и защищает клеточные структуры, поэтому полного разрушения фотосинтетических систем I и II не происходит, а следовательно, С-фц сохраняется [Беккер и др., 1981; Liu et al., 2016].

Ранее были определены пределы ОВл для хранения некоторых цианобактерий и микроводорослей в состоянии ангидробиоза, при которых поддерживались их физиолого-биохимические свойства. Например, для успешной реактивации и возвращения в жизнеспособное состояние *Synechococcus elongatus* (Nägeli) Nägeli, 1849 необходима остаточная влажность 8–11 %; для *Phaeodactylum tricornutum* Bohlin, 1897 — 12–14 %; для *L. platensis* — 9–11 % [Харчук, 2008a]. При уровне ОВл ниже или выше оптимального клетки теряют жизнеспособность и не переходят в состояние анабиоза [Беккер и др., 1990; Liu et al., 2016].

Известно, что относительная влажность воздуха зависит от температуры, причём чем выше температура, тем больше водяного пара может вместить воздух и, следовательно, больше влаги удержать [Троцкая и др., 2014]. Вероятно, эта зависимость лежит в основе процесса увеличения ОВл при высокой температуре обезвоживания. Кроме того, при фасовке образцов после высокотемпературной обработки возможно более интенсивное образование конденсата в ёмкостях для хранения. Для *L. platensis* ОВл > 12 % является критической для выживания клеток в высушенном состоянии и приводит к разрушению трихомов [Харчук, 2008b]. Например, при высокой ОВл, 20–24 %, М. Е. Беккером с соавторами [1981] была обнаружена гибель дрожжевых клеток. По-видимому, высокие значения температуры дегидратации и повышенная ОВл образцов комплексно негативно влияли на состояние клеток. Происходило разрушение трихомов и высвобождение из них метаболитов, что увеличивало пул органических веществ, вызывающих активное развитие сопутствующей микрофлоры [Тархова, 2005; Mogale, 2016; Vardaka et al., 2016].

Исследование реактивированных образцов после 2 и 19 лет хранения показало: в первом случае в суспензии наблюдали относительно сохранные трихомы и небольшое количество бактериальных клеток (рис. 3а), а при длительном хранении регистрировали доминирование деформированных и разрушенных трихомов и массовое развитие бактерий (рис. 3б, д). В настоящем исследовании мы не выполняли количественную оценку бактериальных ассоциаций, однако отметили,

что визуально численность бактерий в образцах после 19 лет хранения намного выше, особенно на фрагментах разрушенных трихомов. Бактериальные клетки обнаружены на поверхности слизевого чехла цианобактерий (рис. 3а, г, ж, белые сплошные стрелки), на поверхности разрушенных трихомов (рис. 3д, е, чёрные пунктирные стрелки), в слизевом чехле цианобактерий (рис. 3ж, чёрные сплошные стрелки), в культуральной среде вне клеток *L. platensis* (рис. 3а–в, белые пунктирные стрелки). Доминирование в суспензии длительно хранящихся образцов необратимо повреждённых и мёртвых клеток (65,8 и 34,2 %) с низким содержанием С-фц (1,4 %) было показано ранее [Kharchuk et al., 2022].

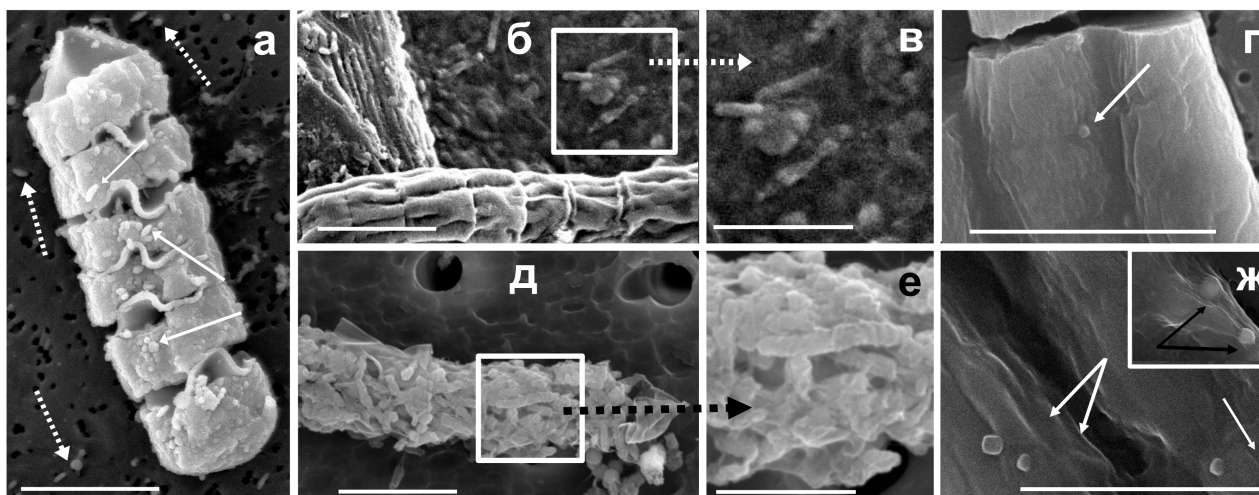


Рис. 3. Трихомы *Limnospira platensis* в реактивированных образцах после 2 и 19 лет хранения в состоянии ангидробноза (по данным сканирующей электронной микроскопии): а — трихомы *L. platensis* и ассоциированные бактерии после 2 лет хранения; б — деформированные трихомы *L. platensis* и ассоциированные бактерии после 19 лет хранения; в — бактерии, сопутствующие *L. platensis*, в культуральной суспензии образцов после 19 лет хранения; г — бактериальные клетки на поверхности слизевого чехла цианобактерий; д — разрушенные трихомы *L. platensis* в образцах после 19 лет хранения; е — бактериальные клетки на разрушенных трихомах; ж — бактериальные клетки на поверхности и в слизевом чехле цианобактерий. Масштабные линейки — 5 мкм

Fig. 3. *Limnospira platensis* trichomes in reactivated samples after 2 and 19 years of storage under anhydrobiosis condition (according to scanning electron microscopy data): а, *L. platensis* trichomes and associated bacteria after 2 years of storage; б, deformed *L. platensis* trichomes and associated bacteria after 19 years of storage; в, *L. platensis*-associated bacteria in a culture suspension of samples after 19 years of storage; г, bacterial cells on the surface of the Cyanobacteria mucilaginous sheath; д, destroyed *L. platensis* trichomes in a culture suspension of samples after 19 years of storage; е, bacterial cells on destroyed trichomes; ж, bacterial cells on the surface and in the Cyanobacteria mucilaginous sheath. Scale bars are 5 μm

Динамика содержания С-фикоцианина в образцах *Limnospira platensis* при различных сроках хранения. Для всех образцов, имеющих у нас в распоряжении (1 и 2 года, 12 и 19 лет — настоящее исследование; 4 года и 17 лет — описаны ранее [Kharchuk et al., 2022]), обнаружено снижение концентрации С-фц по мере увеличения сроков их хранения. Максимальное содержание С-фц в обезвоженных клетках *L. platensis* зафиксировано через 1 год хранения — в среднем ($5,88 \pm 0,68$) %. Между 1 и 2, а также 1 и 4 годами хранения выявлено достоверное снижение показателя (непарный *t*-тест, $p < 0,05$) — до ($2,64 \pm 0,3$) % и ($2 \pm 0,4$) % соответственно. В период после 12 лет наблюдали дальнейшее уменьшение содержания С-фц в 1,1–2 раза (по сравнению с таковым в предыдущий период исследований), однако оно было недостоверным (непарный *t*-тест, $p > 0,05$). Минимальные величины зарегистрированы после 19 лет хранения — ($0,8 \pm 0,02$) % (рис. 4).

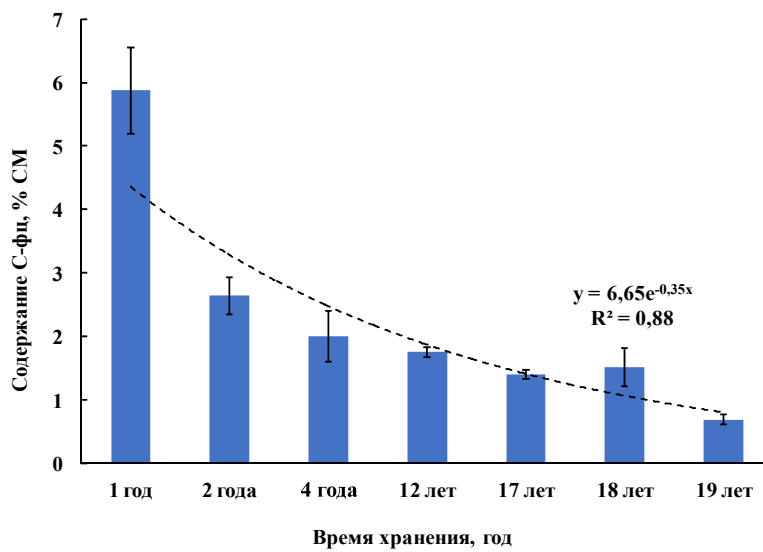


Рис. 4. Содержание С-фикоцианина в обезвоженных пробах *Limnospira platensis* при различных сроках хранения (усреднены данные, полученные при температурах дегидратации +30...+60 °С и остаточной влажности 6,6–15,2 %). Пунктиром показана линия тренда. Данные за 4-й и 17-й годы — из [Kharchuk et al., 2022]

Fig. 4. C-phycocyanin content in dehydrated *Limnospira platensis* samples at different storage periods (averaged data obtained at dehydration temperatures of +30...+60 °С and residual moisture of 6.6–15.2%). The dotted line shows the trend. Data for years 4 and 17 is from [Kharchuk et al., 2022]

Интересно отметить, что вариабельность показателя снижается при увеличении срока хранения образцов. Вероятно, из-за влияния этого фактора, наряду с температурой и ОВл, происходит уменьшение концентрации С-фц, а само содержание пигмента может рассматриваться как индикатор жизнеспособности клеток *L. platensis*. Полученные нами данные указывают на то, что условия дегидратации и дальнейшего хранения цианобактерий, традиционно принятые для промышленного получения биомассы, отличаются от условий, оптимальных для сохранения клеток *L. platensis* в состоянии ангидробิโอ́за с целью возможной реактивации жизнеспособных клеток с высоким содержанием С-фикоцианина. Результаты могут быть применены при подборе условий для сохранения культур микроводорослей и цианопрокариот в состоянии ангидробิโอ́за.

Заключение. Максимальные значения содержания С-фикоцианина (С-фц) в ангидробиозных клетках *Limnospira platensis* обнаружены при температуре дегидратации +30 °С — 5,6 и 3,4 % для 2 и 12 лет хранения соответственно. При увеличении температуры обезвоживания до +50 и +60 °С, вероятно, происходило первичное разрушение трихомов цианобактерий; концентрация пигмента снижалась для обоих сроков исследования — до 1,9 % для 2-го года хранения и до 0,54 % для 12-го года.

Диапазон величин остаточной влажности был шире известного оптимума для *L. platensis*: значения изменялись от 6,9 до 15,4 %. Зависимости остаточной влажности сохраняемых культур от температуры дегидратации не установлено, но наиболее часто образцы с повышенной влажностью (12–15,2 %) фиксировали при высоких температурах обезвоживания (23 % от общей выборки). Пониженную влажность (6,6–8,54 %) регистрировали в 47,4 % образцов при длительном хранении (более 12 лет). При показателях остаточной влажности выше и ниже оптимальных, вероятно, происходили необратимые процессы в клетках цианобактерий и вторичное разрушение трихомов, а содержание С-фц снижалось до минимального уровня. При длительном хранении образцов наблюдали активное развитие микрофлоры и доминирование разрушенных трихомов в суспензии реактивированных цианобактерий.

Для всего массива данных, вне зависимости от температуры дегидратации и от остаточной влажности, отмечена тенденция уменьшения концентрации С-фц при увеличении срока хранения образцов. В диапазоне от 2 до 4 и от 4 до 12 лет снижение носило достоверный характер (непарный *t*-тест, $p < 0,05$), а далее оно было недостоверным (непарный *t*-тест, $p > 0,05$). Вероятно, длительный срок хранения проб, наряду с температурой дегидратации и остаточной влажностью, способствовал деградации С-фц и его полному разрушению. Содержание С-фц может рассматриваться как индикатор жизнеспособности клеток *L. platensis*.

Традиционно принятые условия для промышленного получения биомассы цианобактерий для последующего её использования при производстве БАДов, лекарственных препаратов, пищевых добавок и других биотехнологических продуктов отличаются от условий, необходимых для перевода микроводорослей и цианопрокариот в состояние ангидробิโอ́за с целью возможной дальнейшей реактивации жизнеспособных клеток с высокой концентрацией С-фц. При переводе цианобактерий в состояние ангидробิโอ́за оптимальными являются следующие параметры: дегидратация при температуре +30 °С и хранение образцов при остаточной влажности 9–11 % (срок — не более двух лет). Полученные результаты могут быть полезны для сохранения альгокультур в коллекциях.

Работа выполнена в рамках государственного задания ФИЦ ИнБЮМ по темам «Комплексное исследование механизмов функционирования морских биотехнологических комплексов с целью получения биологически активных веществ из гидробионтов» (№ гос. регистрации 124022400152-1) и «Комплексное исследование экологических и физиолого-биохимических особенностей микроводорослей различных таксономических групп при адаптации к меняющимся условиям среды» (№ гос. регистрации 124021300070-2).

Благодарность. Авторы признательны начальнику лаборатории микроскопии ФИЦ ИнБЮМ В. Н. Лишаеву за помощь при работе на сканирующем электронном микроскопе.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ / REFERENCES

1. Беккер М. Е., Дамберг Б. Э., Рапопорт А. И. *Анабиоз микроорганизмов*. Рига : Зинатне, 1981. 252 с. [Bekker M. E., Damberg B. E., Rapoport A. I. *Anabioz mikroorganizmov*. Riga : Zinatne, 1981, 252 p. (in Russ.)]
2. Беккер М. Е., Лиепиньш Г. К., Райпулис Е. П. Живая клетка и её жизнедеятельность // Беккер М. Е., Лиепиньш Г. К., Райпулис Е. П. *Биотехнология*. Москва : Агропромиздат, 1990. С. 7–41. [Bekker M. E., Liepin'sh G. K., Raipulis E. P. *Zhivaya kletka i ee zhiznedeyatel'nost'*. In: Bekker M. E., Liepin'sh G. K., Raipulis E. P. *Biotekhnologiya*. Moscow : Agropromizdat, 1990, pp. 7–41. (in Russ.)]
3. Воронин А. В., Первушкин С. В., Сохина А. А., Шаталаев И. Ф. Количественное определение фикоцианина в биомассе спироулины // *Фармация*. 2001. № 1. С. 16–17. [Voronin A. V., Pervushkin S. V., Sokhina A. A., Shatalaev I. F. *Kolichestvennoe opredelenie fikotsianina v biomasse spiruliny*. *Farmatsiya*, 2001, no. 1, pp. 16–17. (in Russ.)]
4. Геворгиз Р. Г., Нехорошев М. В. *Количественное определение массовой доли С-фикоцианина и аллофикоцианина в сухой биомассе Spirulina (Arthrospira) platensis North. Geitl. Холодная экстракция : учебно-методическое пособие / РАН, Ин-т морских биологических исследований им. А. О. Ковалевского*. Севастополь, 2017. 21 с. (Препринт / РАН, ИМБИ). [Gevorgiz R. G., Nekhoroshev M. V. *Kolichestvennoe opredelenie massovoi doli C-fikotsianina i allofikotsianina v sukhoi biomasse Spirulina (Arthrospira) platensis North. Geitl. Kholodnaya ekstraktsiya : uchebno-metodicheskoe posobie / RAN, In-t morskikh biologicheskikh issledovaniy im. A. O. Kovalevskogo*. Sevastopol, 2017. 21 p. (Preprint / RAN, IMBI). (in Russ.)]. <https://repository.marine-research.ru/handle/299011/46>
5. Ефимов А. А. Обоснование технологии получения фикоцианина из синезелёных водорослей как пищевой добавки // *Фундаментальные исследования*. 2007. № 11. С. 44–46. [Efimov A. A. *Obosnovanie tekhnologii polucheniya fikotsianina*

- iz sinezelenykh vodoroslei kak pishchevoi dobavki. *Fundamental'nye issledovaniya*, 2007, no. 11, pp. 44–46. (in Russ.). <https://elibrary.ru/iqgayf>
6. Кедик С. А., Ярцев Е. И., Панов А. В. *Спирulina – пища XXI века*. Москва : Институт фармацевтических технологий, 2010. 180 с. [Kedik S. A., Yartsev E. I., Panov A. V. *Spirulina – pishcha XXI veka*. Moscow : Institut farmatsevticheskikh tekhnologii, 2010, 180 p. (in Russ.)]. <https://elibrary.ru/qmcrbv>
 7. Лось Д. А. Физиология и биотехнология микроводорослей: состояние исследований и перспективы // *Физиология растений*. 2013. Т. 60, № 4. С. 459–467. [Los D. A. Fiziologiya i biotekhnologiya mikrovodoroslei: sostoyanie issledovaniy i perspektivy. *Fiziologiya rasteniy*, 2013, vol. 60, no. 4, pp. 459–467. (in Russ.)]. <https://doi.org/10.7868/s001533031304009x>
 8. *Методы физиолого-биохимического исследования водорослей в гидробиологической практике* / отв. ред. А. В. Топачевский. Киев : Наукова думка, 1975. 248 с. [*Metody fiziologo-biokhimicheskogo issledovaniya vodoroslei v gidrobiologicheskoi praktike* / A. V. Topachevsky (Ed.). Kyiv : Naukova dumka, 1975, 248 p. (in Russ.)]
 9. Патент 2541452 Российская Федерация. МПК6 C12N 1/04. *Способ длительного хранения микроводорослей* / Харчук И. А. ; заявитель и патентообладатель Федеральное государственное бюджетное учреждение науки «Институт морских биологических исследований имени А. О. Ковалевского РАН». № 2014149881/93 ; заявл. 26.09.2014 ; приор. 17.03.2008 ; опубл. 10.02.2015, Бюл. № 4. [Patent 2541452 Rossiiskaya Federatsiya. МПК6 C12N 1/04. *Sposob dlitel'nogo khraneniya mikrovodoroslei* / Kharchuk I. A. ; zayavitel' i patentoobladatel' Federal'noe gosudarstvennoe byudzhethnoe uchrezhdenie nauki "Institut morskikh biologicheskikh issledovaniy imeni A. O. Kovalevskogo RAN". No. 2014149881/93 ; zayavl. 26.09.2014 ; prior. 17.03.2008 ; opubl. 10.02.2015, Byul. no. 4. (in Russ.)]
 10. Петряков В. В. Изучение физических свойств и состава питательных веществ микроводоросли *Spirulina platensis*, выращенной в лабораторных условиях // *Научный альманах*. 2015. № 2. С. 149–152. [Petryakov V. V. The study of the physical properties and composition of nutrients in microalgae *Spirulina platensis* grown in laboratory conditions. *Nauchnyi al'manakh*, 2015, no. 2, pp. 149–152. (in Russ.)]. <https://elibrary.ru/txzgzv>
 11. Тархова Э. П. Микроорганизмы, сопутствующие *Spirulina platensis* в накопительной культуре // *Экология моря*. 2005. Вып. 70. С. 49–52. [Tarhova E. P. Microorganisms associated with *Spirulina platensis* (Nordst.) in accumulated culture. *Ekologiya morya*, 2005, iss. 70, pp. 49–52. (in Russ.)]. <https://repository.marine-research.ru/handle/299011/4705>
 12. Троцкая Т. П., Раицкий Г. Е., Леонович И. С. Экономия энергии при работе распылительных сушилок за счёт снижения влажности сушащего агента // *Пищевая промышленность: наука и технологии*. 2014. № 2 (24). С. 70–74. [Trockaya T. P., Raitsky G. E., Leonovich I. S. Economy of energy during the work of spray dryers due to decrease in humidity of the drying agent. *Pishchevaya promyshlennost': nauka i tekhnologii*, 2014, no. 2 (24), pp. 70–74. (in Russ.)]. <https://elibrary.ru/szjqct>
 13. Харчук И. А. *Ангидробриоз микроводорослей как способ сохранения их жизнеспособности* : автореф. дис. ... канд. биол. наук : 03.02.10. Севастополь, 2008а. 27 с. [Kharchuk I. A. *Angidrobioz mikrovodoroslei kak sposob sokhraneniya ikh zhiznesposobnosti* : avtoref. dis. ... kand. biol. nauk : 03.02.10. Sevastopol, 2008a, 27 p. (in Russ.)]. <https://elibrary.ru/gfgzwi>
 14. Харчук И. А. Динамика жизнеспособности и компонентов биохимического состава *Arthrospira (Spirulina) platensis* (Nords) Gomont в зависимости от температуры дегидратации при переводе в состояние ангидробриоза // *Вопросы современной альгологии*. 2018. № 1 (16). [Kharchuk I. A. Dynamics of viability and components of biochemical composition of *Arthrospira (Spirulina) platensis* (Nords) Gomont depending on the dehydration temperature transferring at anhydrobiosis state. *Voprosy sovremennoi algologii*, 2018, no. 1 (16). (in Russ.)]. URL: <http://algology.ru/1258> [accessed: 13.06.2025].
 15. Харчук И. А. Динамика компонентов биохимического состава *Spirulina platensis* при ангидробриозе // *Экология моря*. 2008b. Вып. 76. С. 67–71. [Kharchuk I. A. Dynamics of components of biochemical structure of *Spirulina platensis* at the anhydrobiosis. *Ekologiya morya*, 2008b, iss. 76, pp. 67–71.

- (in Russ)]. <https://repository.marine-research.ru/handle/299011/4821>
16. Харчук И. А., Копытов Ю. П. Динамика концентрации липидов в клетках *Dunaliella salina* при лимитировании углеродного питания // *Экология моря*. 2005. Вып. 67. С. 111–113. [Kharchuk I. A., Kopitov Y. P. Dynamics of lipid concentration in *Dunaliella salina* cells in conditions of limited carbon feed. *Ekologiya morya*, 2005, iss. 67, pp. 111–113. (in Russ.)]. <https://repository.marine-research.ru/handle/299011/4660>
 17. Becker E. W. Development of *Spirulina* research in a developing country – India. In: *Spirulina, Algae of Life* / F. Doumenge, H. Durand-Chastel, A. Toulemont (Eds). Leiden : Monaco, Musee Océanographique, 1993, pp. 141–157. (Bulletin de l'Institut océanographique. Special ; no. 12). (in French).
 18. Bratbak G. Microscope methods for measuring bacterial biovolume: Epifluorescence microscopy, scanning electron microscopy, and transmission electron microscopy. In: *Handbook of Methods in Aquatic Microbial Ecology* / P. F. Kemp, J. J. Cole, B. F. Sherr, E. B. Sherr (Eds). Boca Raton : CRC Press, 1993, chap. 36, pp. 309–318. <https://doi.org/10.1201/9780203752746>
 19. Chaouachi M., Vincent S., Groussard C. A review of the health-promoting properties of *Spirulina* with a focus on athletes' performance and recovery. *Journal of Dietary Supplements*, 2024, vol. 21, iss. 2, pp. 210–241. <https://doi.org/10.1080/19390211.2023.2208663>
 20. Choopani A., Poorsoltan M., Fazilati M., Latifi A. M., Salavati H. *Spirulina*: A source of gamma-linoleic acid and its applications. *Journal of Applied Biotechnology Reports*, 2016, vol. 3, iss. 4, pp. 483–488.
 21. Ermolaev V. A. Selection of the temperature regime for freeze-drying *Spirulina*. *Vestnik Mezhdunarodnoi akademii kholoda*, 2020, no. 1, pp. 84–88. <https://doi.org/10.17586/1606-4313-2020-19-1-84-88>
 22. Faucher O., Coupal B., Leduy A. Utilization of seawater-urea as a culture medium for *Spirulina maxima*. *Canadian Journal of Microbiology*, 1979, vol. 25, no. 6, pp. 752–759. <https://doi.org/10.1139/m79-109>
 23. Kharchuk I. A., Rylkova O. A., Beregovaya N. M. State of cyanobacteria *Arthrospira platensis* and of associated microflora during long-term storage in the state of anhydrobiosis. *Microbiology*, 2022, vol. 91, no. 6, pp. 704–712. <https://doi.org/10.1134/s0026261722601786>
 24. Liu Q., Huang Y., Zhang R., Cai T., Cai Y. Medical application of *Spirulina platensis* derived C-phycoyanin. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2016, vol. 4, art. 7803846 (14 p.). <https://doi.org/10.1155/2016/7803846>
 25. Mogale M. *Identification and Quantification of Bacteria Associated with Cultivated Spirulina and Impact of Physiological Factors*. Master Thesis / University of Cape Town. Cape Town, 2016, 184 p. <http://hdl.handle.net/11427/22921>
 26. Mróz M., Parchem K., Józwiak J., Domingues M. R., Kusznierevicz B. The impact of different drying methods on the metabolomic and lipidomic profiles of *Arthrospira platensis*. *Molecules*, 2024, vol. 29, iss. 8, art. 1747 (21 p.). <https://doi.org/10.3390/molecules29081747>
 27. Stadnichuk I. N., Krasilnikov P. M., Zlenko D. V. Cyanobacterial phycobilisomes and phycobiliproteins. *Microbiology*, 2015, vol. 84, iss. 2, pp. 101–111. <https://doi.org/10.1134/s0026261715020150>
 28. Soni R. A., Sudhakar K., Rana R. S. *Spirulina* – from growth to nutritional product: A review. *Trends in Food Science & Technology*, 2017, vol. 69, pt A, pp. 157–171. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.09.010>
 29. Vardaka E., Kormas K. A., Katsiapi M., Genitsaris S., Moustaka-Gouni M. Molecular diversity of bacteria in commercially available “*Spirulina*” food supplements. *Peer J*, 2016, vol. 4, art. e1610 (14 p.). <https://doi.org/10.7717/peerj.1610>
 30. *Spirulina platensis* (*Arthrospira*). *Physiology, Cell-Biology and Biotechnology* / A. Vonshak (Ed.). London : CRC Press, 1996, 233 p. <https://doi.org/10.1201/9781482272970>

**FACTORS AFFECTING C-PHYCOCYANIN CONCENTRATION IN CELLS
OF *LIMNOSPIRA PLATENSIS* (GOMONT) K. R. S. SANTOS & HENTSCHE
(*SPIRULINA*)
AT DIFFERENT STORAGE PERIODS IN DEHYDRATED STATE**

I. Kharchuk, N. Beregovaya, and O. Rylkova

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

Limnospira platensis (Gomont) K. R. S. Santos & Hentschke, 1973 (*Spirulina*) has a high nutritional value: it contains up to 70% of protein, as well as carotenoids, B vitamins, vitamin E, and other nutrients and minerals. Optimal storage of cyanobacteria is achieved by drying, and in this form, the biomass preserves its useful properties for a long time. Moreover, cells remain viable when entering the state of anhydrobiosis, and this is crucial for preserving the biodiversity of cyanoprokaryotes and microalgae in storages. Among the biochemical components of *L. platensis*, the pigment C-phycoyanin (C-PC) is of particular interest: it has antioxidant, immunomodulatory, and cancer-preventing properties, and it is a component of photosynthetic pigment complexes of cyanobacteria. The aim of this work was to determine C-PC content in *L. platensis* samples preserved in the state of anhydrobiosis within 1–19 years and to reveal the key factors affecting the decrease in its concentration. To analyze *L. platensis* biomass, standard methods (biochemical and optical ones) were used, and also microscopic technique was applied to control associated microflora. The maximum amount of C-PC was obtained at a temperature of +30 °C (5.6 and 3.4% for the 2nd and 12th years of storage, respectively). Dehydration at higher temperatures, +50 and +60 °C, led to a drop in pigment content (1.9 and 0.54% for the 2nd and 12th years of storage, respectively). No clear correlation between the level of C-PC concentration and residual moisture was revealed; however, in 23% of samples at high dehydration temperatures, increased residual moisture was recorded (12–16%). Storage for 19 years, in contrast to storage for 2 years, was characterized by the dominance of destroyed trichomes and the abundant development of associated bacteria. A decrease in C-PC concentration in the samples and a decline in variability of the indicator with increasing storage period were noted. Apparently, storage period, along with temperature and residual moisture, affected the drop in the pigment concentration. Probably, C-PC content can be considered as an indicator of *L. platensis* cell viability. When transferring cyanobacteria to the state of anhydrobiosis, it is most reasonable to carry out dehydration at a temperature of +30 °C and store samples at a residual moisture of 9–11% (for no more than 2 years). The results may be useful for preserving biodiversity and obtaining C-PC-rich biomass in anhydrobiotic collections of algae and cyanobacteria.

Keywords: cyanobacteria, anhydrobiosis, microalgae, dehydration, residual moisture, temperature, storage period