

Моделирование содержания белка в биомассе микроводорослей в рейтстате

Новикова Т.М., Тренкеншу Р.П., Лелеков А.С., Боровков А.Б.

*Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный
исследовательский центр «Институт биологии южных морей имени
А.О. Ковалевского РАН», Севастополь, Россия*

Аннотация. В работе рассматривается один из видов непрерывного культивирования микроводорослей с задаваемой начальной плотностью культуры и фиксированным временем между разбавлениями. Такому режиму был предложен термин рейтстат. Он позволяет получить культуру микроводорослей, нелимитированную по биогенным элементам, освещённости, pH, температуре, как следствие, происходит стабилизация биохимического состава биомассы. После адаптации культуры к заданным внешним условиям была получена постоянная продуктивность, и изучалась динамика содержания белка в биомассе при различных стационарных плотностях культуры. Изменяя стационарную плотность, получали культуру с разным световым обеспечением на единицу биомассы. Цель работы – разработать математическую модель, позволяющую объяснить динамику накопления белка в биомассе на примере зелёной микроводоросли *Tetraselmis viridis* в рейтстате. При описании биотрансформаций биохимических веществ белок был выбран как наиболее весомый компонент биомассы физиологически активной культуры. Кроме того, белок является неотъемлемым компонентом клеточной структуры, что позволяет математически выразить остальные клеточные структуры через его содержание. Приводятся экспериментальные данные по содержанию белка в биомассе и продуктивности тетраселмиса в непрерывном режиме культивирования для различных стационарных состояний культуры. В основу математической модели положено, что в области работы рейтстата удельная скорость синтеза белка прямо пропорциональна количеству поглощённой световой энергии на единицу ключевого мультиферментного комплекса, на котором происходит сопряжение энергообменных реакций. Вводится поправка, что часть клеточных белков разрушается в ходе окислительных реакций с постоянной удельной скоростью. Получены аналитические уравнения, описывающие суточную динамику концентрации общего белка в зависимости от биомассы тетраселмиса.

Ключевые слова: удельная скорость роста, удельная скорость синтеза белка, продукция белка, линейный рост, приведённый световой поток, коэффициент поглощения света

ВВЕДЕНИЕ

В основе управления ростом культур микроводорослей лежит изменение воздействия физико-химических факторов среды или изменение режима выращивания. На сегодняшний день разработан целый ряд способов культивирования микроорганизмов. Проточное культивирование делят на хемостатное и турбидостатное. Так, в хемостате скорость роста и плотность культуры водорослей обусловлена стабилизацией концентрации в культуральной среде лимитирующего субстрата, а в турбидостате – изменением доли обмена культуральной среды на питательную.

Различают несколько типов турбидостата: поддерживается постоянная биомасса, содержание хлорофилла, концентрация клеток, или pH культуральной среды [1]. К области работы хемостата зачастую относят фазу замедления роста и стационарную, а турбидостата – экспоненциальную и линейную фазу роста культур [2]. В данной работе будет рассмотрен вариант турбидостатного культивирования, который позволяет изучать рост микроводорослей, нелимитированный по биогенным элементам. Процедуру разбавления можно повторять неоднократно, в результате чего в культиваторе будет наблюдаться непрерывный рост культуры. Выбирая относительный объем разбавления, можно уменьшать плотность культуры до необходимой величины, а изменяя промежуток времени между разбавлениями, можно повышать плотность до необходимой за счёт роста культуры. Ясно, что регулирование имеет пределы, определяемые внешними условиями и предельными видоспецифическими характеристиками роста микроводорослей.

Если непрерывный рост клеток обеспечивается периодическим разбавлением культуры питательной средой, то такой режим выращивания также называют квазинепрерывной проточной культурой, основной характеристикой которой является коэффициент разбавления. С уменьшением коэффициента разбавления и периода между разведениями удельная скорость потока в квазинепрерывной культуре будет приближаться к удельной скорости роста. В непрерывной проточной культуре они станут равными. Таким образом осуществляется управление скоростью роста квазинепрерывной культуры, для бактерий этот процесс называют спидостат. Термин рейтстат предложен в качестве замены термину спидостат [3] одним из авторов цитируемой работы Ю.Л. Гуревичем (в личной беседе). В этой работе впервые было высказано предположение о возможности управления культурой микроводорослей с импульсным разведением питательной средой до необходимой плотности таким образом, чтобы продуктивность была постоянной. В дальнейшем такой режим управления технически был реализован этими же авторами в условиях лимитирования роста микробной популяции подачей газов [4]. Независимо от механизма, обеспечивающего линейный рост, постоянство скорости роста позволяет относительно простыми способами управлять биохимическим составом получаемой биомассы в довольно широком диапазоне. Это свойство очень удобно в практическом плане, т. к. без потери продуктивности можно выбрать такую плотность непрерывной культуры, при которой на выходе будет получена биомасса с заданным биохимическим составом. Корректные количественные закономерности, описывающие такие изменения, могут быть получены только в проточной культуре, когда возможно исключить влияние адаптационных и селекционных процессов. Причём проток среды должен быть организован в диапазоне плотностей линейного участка накопительной кривой, когда продуктивность культуры постоянна, т. е. в рейтстате.

В современной литературе встречаются немногочисленные работы, в которых проводятся исследования биохимического состава микроводорослей на протоке. Турбидостатное культивирование и его частный случай рейтстат позволяет исключить лимитирование биогенными элементами, и, как следствие, достичь максимальной продуктивности культуры и продукции целевого компонента биомассы. При таком способе культивирования скорости синтеза биохимических составляющих будут стремиться к постоянству и определяться текущими световыми условиями. В литературе биохимические составляющие биомассы рассматриваются как индикатор физиологического состояния культуры или как целевые вещества для биотехнологии. Большая часть работ, посвящённая исследованиям влияния света на рост микроводорослей, рассматривает биомассу водорослей в целом, не разделяя её на биохимические составляющие [5, 6]. Авторы рассчитывают различные количественные показатели роста культуры, такие как: выход биомассы на единицу поглощённой световой энергии, интенсивность флюоресценции, содержание основных

фотосинтетических пигментов (хлорофиллы и каротиноиды) [7–9]. Например, в работах, посвящённых изучению компонентов цепи переноса электронов при фотосинтезе [10], делается акцент на соотношение первой и второй фотосистем как показатель физиологического состояния клеток. Такого рода исследования не позволяют сделать обоснованных выводов о направленности биосинтеза водорослей в условиях избытка или недостатка световой энергии, о механизмах влияния света на кинетические и продукционные характеристики культуры.

Второе направление биохимических исследований культур микроводорослей посвящено решению биотехнологических задач получения ценного компонента биомассы. В связи с последними тенденциями поиска альтернативных источников энергии авторы многих работ изучают накопление липидов и углеводов в биомассе с целью производства биотоплива [11]. На накопление этих веществ влияют как внешние факторы среды, так и внутренняя организация метаболических путей. Известно, что в клетках происходит непрерывная биотрансформация резервных компонентов в структурные в первую очередь белковые соединения [12]. Поэтому наиболее актуальным представляется подход, учитывающий три основных компонента для моделирования динамики биомассы биохимического состава.

В ранее опубликованной работе [13] было предложено биомассу водорослей рассматривать как сумму основных биохимических компонентов клеток таких как белки, углеводы и липиды. Также была предложена система дифференциальных уравнений, позволяющих описать динамику биохимического состава клеток микроводорослей при изменении факторов внешней среды и внутренней организации фотосинтетических процессов. Следующим этапом этих исследований является переход от обобщённых уравнений к их частным решениям для целевого биохимического компонента биомассы. В работе поставлена цель разработать математическую модель, позволяющую объяснить динамику накопления белка в биомассе на примере зелёной микроводоросли *Teraselmis viridis* в рейтстате. Белок является наиболее весомым компонентом биомассы физиологически активных культур, поэтому именно он выбран для описания биотрансформаций биохимических веществ. Кроме того, белок является неотъемлемым компонентом клеточной структуры, что позволяет математически выразить остальные структуры в микроводоросли через содержания белка.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Культура *Teraselmis viridis* Rouch. штамм IBSS-25 была получена из ЦКП «Коллекция гидробионтов Мирового океана» Федерального исследовательского центра «Институт биологии южных морей имени А.О. Ковалевского РАН». Культуру выращивали на среде, разработанной для зелёной морской водоросли *T. viridis* [14], в 1 л морской воды растворяли следующие вещества (г/л): NaNO_3 – 1.8; $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \times 2 \text{H}_2\text{O}$ – 0.3; Na_2EDTA – 0.037; $\text{FeC}_6\text{H}_5\text{O}_7 \times 7 \text{H}_2\text{O}$ – 0.042; $\text{MnCl}_2 \times 4 \text{H}_2\text{O}$ – 0.008; $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \times 6 \text{H}_2\text{O}$ – 0.0062; $(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \times 4 \text{H}_2\text{O}$ – 0.00183; $\text{K}_2\text{Cr}_2(\text{SO}_4)_2 \times 24 \text{H}_2\text{O}$ – 0.00238. Использовали плоскопараллельный фотобиореактор с рабочей толщиной 50 мм, объём – 3 л [15]. В качестве источника света – лампы дневного света General Electric F18W/54-765, средняя освещённость на поверхности составляла 19 кЛк. Барботаж культуры осуществляли газо-воздушной смесью с 3 % по объёму углекислого газа с помощью компрессорной установки, скорость подачи воздуха была установлена на уровне 1 л на литр культуры в минуту. Значение температуры составляло 28 ± 2 °С.

В эксперименте проводили измерение температуры, pH, оптической плотности суспензии. Перед проведением измерений в фотобиореактор добавляли дистиллированную воду с целью компенсации испарения. Температуру суспензии измеряли ртутным термометром непосредственно в культиваторе, абсолютная погрешность измерений составляла ± 0.5 °С. Освещённость поверхности

фотобиореактора определяли люксметром Ю-116. Оптическую плотность при длине волны 750 нм использовали как косвенный показатель биомассы водорослей. Оптическую плотность рассчитывали по формуле: $D = -\lg(T)$, где T – величина пропускания, определяемая на КФК-2 при длине волны 750 нм, абсолютная погрешность при измерении величины пропускания не превышала 1 %. Зольность культуры *T. viridis* составила 21 % от абсолютно сухой массы. При пересчёте единиц оптической плотности к органическому веществу (ОВ) использовали эмпирически определённый коэффициент 0.8: $B = 0.8 \cdot D_{750}$.

Культуру микроводоросли *T. viridis* предварительно выращивали накопительным способом для получения инокулята и адаптации к условиям эксперимента. После культура была переведена в турбидостатный режим культивирования и разбавлена до начальной плотности 0.4 г(ОВ)/л. Далее ежедневно в одно и то же время культуру разбавляли исходя из скорости прироста биомассы. Перед разведением определяли оптическую плотность культуры, рассчитывали коэффициент разбавления и объём культуры, который нужно слить. Для расчёта коэффициента разведения использовали формулу из работы [16]. Адаптация культуры к каждой заданной плотности длилась около пяти дней. Когда скорость роста становилась постоянной и равной предыдущим суткам производился отбор проб для определения содержания белка в культуре методом Лоури [17]. Такую же схему применяли для других плотностей, а именно – от 0.4 до 1 г(ОВ)/л, с шагом 0.1 г(ОВ)/л, кроме плотности 0.8 г(ОВ)/л которую не учитывали, в связи с техническими сложностями.

Такой режим выращивания обеспечивал непрерывную постоянную скорость роста и позволял получать ежедневно объём сливаемой культуры в количестве необходимых для биохимических измерений.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЯ

Эксперимент продолжался в течение 50 дней. Динамика накопления биомассы, выраженной в единицах органического вещества, представлена на рисунке 1а.

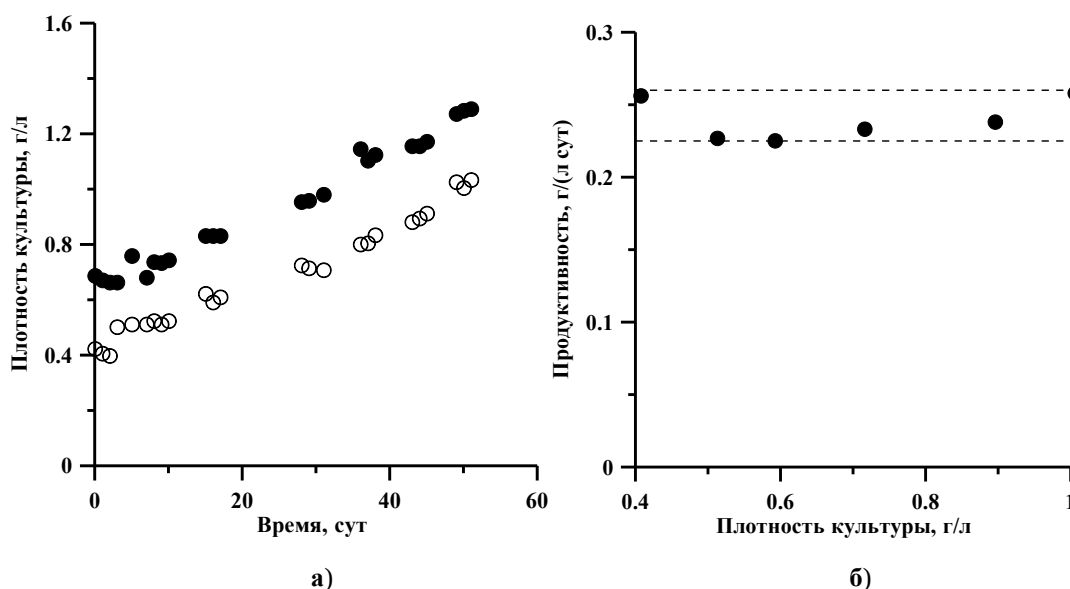


Рис. 1. а) – Динамика накопления биомассы культуры *T. viridis* в рейтстате ● – плотность культуры перед разбавлением, ○ – плотность культуры после разбавления. б) – Продуктивность культуры на заданных плотностях

Во всём диапазоне плотностей рейтстата наблюдали постоянную продуктивность культуры, которая в среднем составляла 0.25 ± 0.02 г/(л·сут). (рис. 1б).

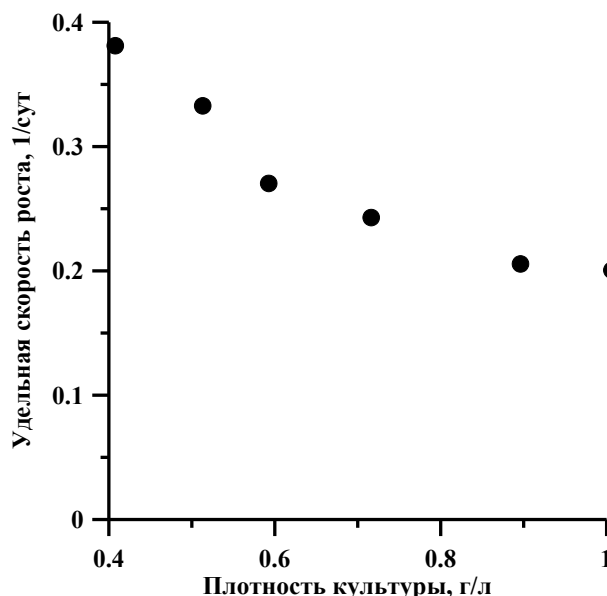


Рис. 2. Зависимость удельной скорости роста от плотности культуры *T. viridis* в рейтстате

Для каждого стационарного состояния была рассчитана удельная скорость роста культуры [18]. При переходе на более высокую плотность культуры мы наблюдали снижение удельной скорости роста μ (рис. 2). Учитывая, что используемая питательная среда обеспечивает рост культуры до 4–6 г/л [15], на выбранном диапазоне плотностей элементы минерального питания и газовое обеспечение не являются лимитирующими факторами. Таким образом, постоянная продуктивность и, как следствие, снижение удельной скорости роста обусловлены световыми условиями, в которых находились клетки *T. viridis*.

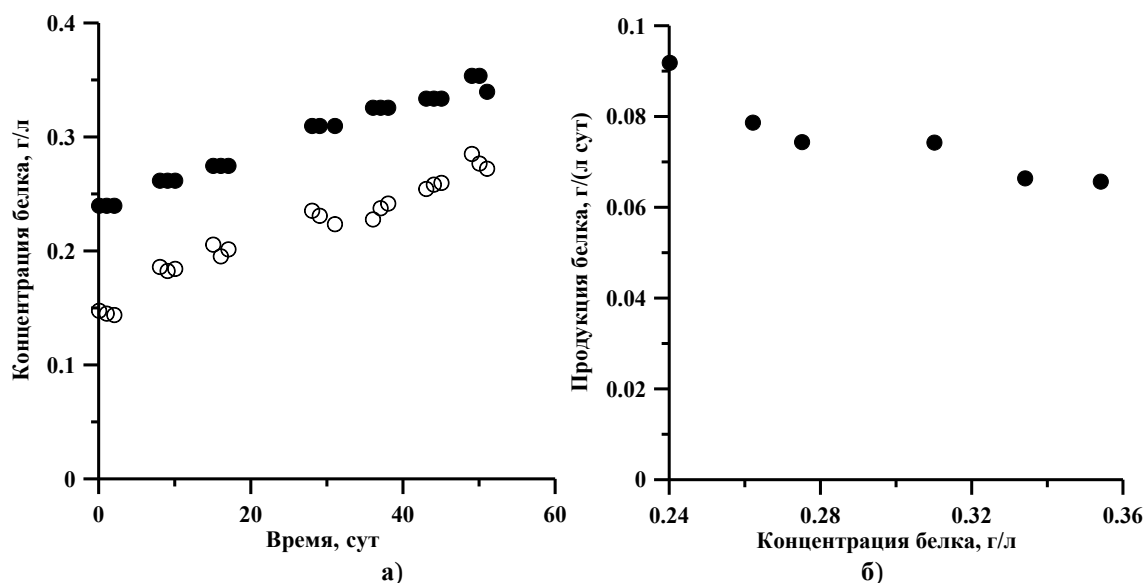


Рис. 3. а) – Динамика накопления белка в рейтстаной культуре *T. viridis*. ● – концентрация белка перед разбавлением культуры, полученная методом Лоури, ○ – концентрация белка, после разбавления. б) – Зависимость продукции от концентрации белка

Динамика содержания белка в рейтстате, представленная на рисунке 3а, в целом соответствовала накоплению биомассы. Верхние черные маркеры – это данные, полученные в ходе прямых измерений белка в биомассе методом Лоури. Таким образом вначале организации рейтстатного режима при плотности культуры

0.67 ± 0.01 г(ОВ)/л концентрация белка в культуре составила 0.24 г/л, к концу – плотность составила 1.28 ± 0.01 г(ОВ)/л а концентрация белка – 0.35 г/л. Нижние значения белка, изображённые на рисунке светлыми маркерами, рассчитывались путём умножения измеренного содержания белка на коэффициент разбавления культуры микроводорослей. Полученная разность содержания белка позволила определить продукцию белка для каждой стационарной плотности.

Усреднённые по трём суткам значения продукции представлены на рисунке 3б.

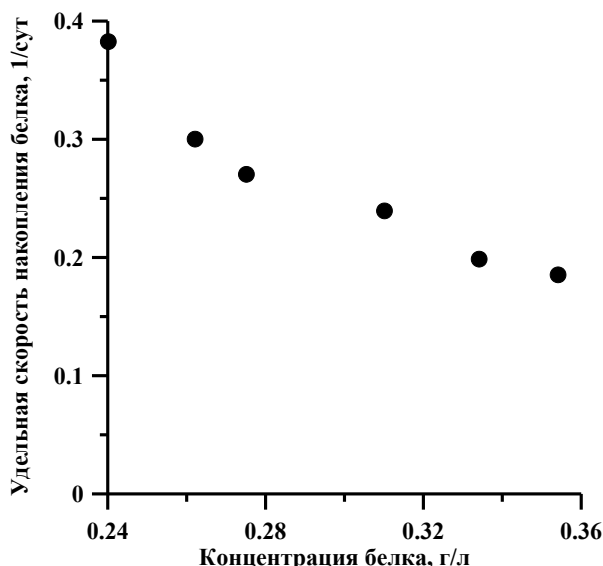


Рис. 4. Зависимость удельной скорости накопления белка культурой *T. viridis* от его концентрации в рейтстате

Кривая удельной скорости накопления белка по форме совпадала с зависимостью удельной скорости роста от биомассы. Однако продукция белка, в отличие от продуктивности по биомассе в целом, статистически достоверно снижалась с ростом стационарной плотности культуры (рис. 4). Это говорит о том, что и доля белка в биомассе также снижается. Рассматривая биомассу как совокупность трёх основных компонентов (белки, углеводы, липиды), можно предполагать, что при снижении содержания белка должно увеличиваться содержание других составляющих. В литературе имеются данные о росте содержания липидов и углеводов при недостатке азота или других биогенных элементов в различных режимах культивирования [19, 20]. При этом световые условия, в которых находятся клетки, для низших фотоавтотрофов являются основным фактором воздействия на биохимический состав клеток [21–24]. Это подтверждается многочисленными экспериментальными работами в светотемновых режимах по биотрансформации химических компонентов клеток [25]. Поэтому необходимо разработать модель, которая позволит объяснить механизм влияния света на содержание белка в рейтстате.

МАТЕМАТИЧЕСКАЯ МОДЕЛЬ

В простейшем случае удельная скорость синтеза белка зависит от приведённой плотности светового потока λ_i и описывается линейными сплайнами [26]. По окончании экспоненциального роста культуры при оптимальных концентрациях биогенных элементов культура переходит в линейную фазу роста, характеризующуюся постоянной продуктивностью. Поэтому можно считать, что для области работы рейтстата удельная скорость синтеза белка прямо пропорциональна λ_i – количеству поглощённой световой энергии на единицу ключевого мультиферментного комплекса, на котором происходит сопряжение энергообменных реакций. Также предположим, что

за счёт окислительных процессов часть клеточных белков разрушается с постоянной удельной скоростью μ_r . Учитывая вышесказанное, запишем зависимость удельной скорости накопления белка от приведённого светового потока в виде:

$$\mu_{\varphi} = \mu_{\varphi}^m \frac{\varphi_e \alpha I_0}{\mu_e F_0} - \mu_r, \quad (1)$$

где μ_{φ}^m – максимальная удельная скорость синтеза белка, φ_e – количество макроэргов, восстанавливающихся за счёт единицы поглощённой энергии, α – коэффициент поглощения света, I_0 – поверхностная облучённость, F_0 – концентрация мультиферментного комплекса, μ_e – его активность.

Максимальная удельная скорость синтеза белка определяется только кинетическими параметрами мультиферментного комплекса и его долей в биомассе:

$$\mu_{\varphi}^m = \frac{\varphi_0}{\theta} \cdot \zeta \cdot f \cdot \mu_e, \quad (2)$$

где φ_0 – эффективность преобразования энергии макроэргов в химическую энергию белка, мг/Дж; θ – калорийность белка, Дж; ζ – свободная энергия одной молекулы макроэрга, Дж.

Основываясь на пропорциональности всех структурных компонентов биомассы [26], выразим концентрацию F_0 через общий белок:

$$F_0 = f \cdot \varphi, \quad (3)$$

где f – доля мультиферментного комплекса в общем белке (константа).

Известно, что коэффициент поглощения света определяется концентрацией основного фотосинтетического пигмента хлорофилла a и описывается законом Бугера – Ламберта – Бера. Для многих видов микроводорослей обнаруживается прямая пропорциональность между хлорофиллом и белком [27], что, учитывая выражения (3) и (2), позволяет нам записать удельную скорость накопления белка в рейтстате в следующем виде:

$$\mu_{\varphi} = \frac{\varphi_0}{\theta} \cdot \zeta \cdot \mu_e \cdot f \cdot \frac{\varphi_e (1 - e^{-k \cdot f_{\pi} \cdot \varphi}) I_0}{\mu_e \cdot f \cdot \varphi} - \mu_r = \varphi_m \cdot \frac{(1 - e^{-k \cdot f_{\pi} \cdot \varphi}) I_0}{\varphi} - \mu_r, \quad (4)$$

где f_{π} – доля хлорофилла a в общем белке (константа), k – удельный коэффициент поглощения хлорофилла a , φ_m – обобщённая константа.

На рисунке 5а представлена аппроксимация выражением (4) экспериментальных данных. При расчётах использовали ранее определённые значения удельного коэффициента поглощения хлорофилла a , который для тетраселмиса составил $k = 0.008 \text{ м}^2/\text{мг} \cdot \text{хл}$, а также величину коэффициента пропорциональности $f_{\pi} = 78 \text{ мг} \cdot \text{хл}/\text{г}$ белка [27].

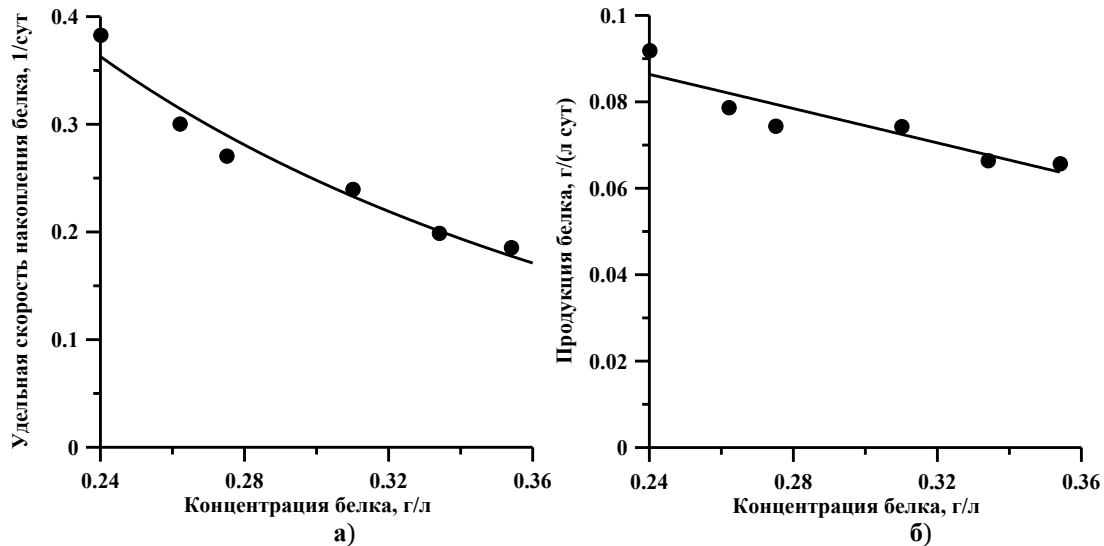


Рис. 5. а) – зависимость удельной скорости накопления белка культурой *T. viridis* от его концентрации в рейтстате. Линия – аппроксимация ($R^2 = 0.96$) экспериментальных данных выражением (4). б) – сравнение теоретической кривой (6) и экспериментальных данных зависимости продукции белка от его концентрации

С учётом проведённых вычислений и того, что толщина рабочего слоя культуры в нашем эксперименте составляла 5 см, выражение, описывающее убывь удельной скорости накопления белка с ростом его концентрации, имеет вид:

$$\mu_{\mathcal{P}} = 0.14 \cdot \frac{1 - e^{-31.2 \cdot \mathcal{P}}}{\mathcal{P}} - 0.2. \quad (5)$$

Получим зависимость продукции белка от его концентрации. По определению, продукция есть произведение удельной скорости синтеза и концентрации:

$$\frac{d\mathcal{P}}{dt} = \mu_{\mathcal{P}} \cdot \mathcal{P} = 0.14 \cdot (1 - e^{-31.2 \cdot \mathcal{P}}) - 0.2 \cdot \mathcal{P}. \quad (6)$$

На рисунке 5б представлено сравнение теоретической кривой (6) и экспериментальных данных зависимости продукции белка от его концентрации.

С учётом того, что в заданном диапазоне концентраций белка коэффициент поглощения света близок к единице: $\alpha \approx 1$, т. е. культура являлась оптически плотной, выражения (5) и (6) могут быть записаны в приближённом виде:

$$\mu_{\mathcal{P}} \cong \frac{0.13}{\mathcal{P}} - 0.2, \quad (7)$$

$$\frac{d\mathcal{P}}{dt} \cong 0.13 - 0.2 \cdot \mathcal{P} \quad (8)$$

Получим выражение, описывающее динамику концентрации белка между двумя последующими разбавлениями. В виду того, что при интегрировании выражения (6) невозможно получить решение в аналитических функциях, используем упрощённую запись (8):

$$\int_{\mathcal{P}_0}^{\mathcal{P}} \frac{d\mathcal{P}}{0.13 - 0.2 \cdot \mathcal{P}} = \int_{t_0}^t dt, \\ \mathcal{P} = 0.65 - (0.65 - \mathcal{P}_0) \cdot e^{-0.2 \cdot (t - t_0)}, \quad (9)$$

где $\mathcal{P}_0$ – начальная концентрация белка в момент времени t_0 .

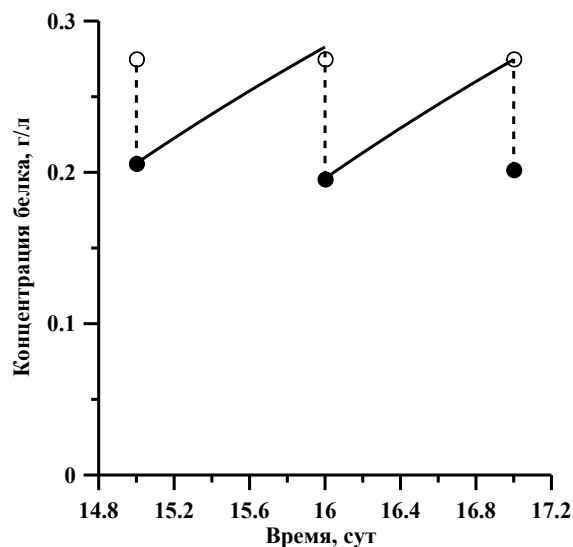


Рис. 6. Динамика концентрации белка между последовательными разбавлениями в рейтстате. Сплошная линия – расчёт по уравнению (9). Пунктирная линия показывает момент разбавления культуры

На рисунке 6 представлен результат теоретического расчёта по уравнению (9) между последовательными разбавлениями для одной из плотностей культуры микроводорослей. При начальной концентрации белка 0.2 г/л, за сутки, прирост белка составил 0.07 г/(л·сут), что прямо коррелирует с экспериментальными результатами.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данной работе впервые для интенсивных культур микроводорослей предложен новый подход к управлению биохимическим составом в рейтстатной культуре на примере зелёной микроводоросли *T. viridis*. Показано, что в области работы рейтстата биохимический состав клеток зависит от приведённого светового потока. С ростом плотности культуры продукция белка уменьшается при этом увеличивается доля небелковых компонентов (липидов, углеводов). Предложены аналитические уравнения, описывающие суточную динамику концентрации общего белка от плотности культуры. Эти уравнения позволяют прогнозировать динамику белка для биотехнологических целей и являются первым шагом для разработки комплексных моделей биотрансформации биохимических компонентов. Для достижения этой цели следует дополнить разработанную модель уравнением трансформации углеводов и липидов. Разработанная модель верифицирована на экспериментальных данных по содержанию белка.

Работа выполнена в рамках гос. задания № 126021016953-0 «Разработка биотехнологической платформы создания инновационных продуктов и сырья на основе культур микроводорослей и цианобактерий для пищевой, косметической и фармацевтической промышленности» и № 124022400152-1 «Комплексное исследование механизмов функционирования морских биотехнологических комплексов с целью получения биологически активных веществ из гидробионтов».

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Eltsova Z., Bolshakov M., Tsygankov A. Effect of light intensity and various organic acids on the growth of *Rhodobacter sphaeroides* LHII-deficient mutant in a turbidostat culture. *Photosynthesis Research*. 2016. V. 130. No. 1. P. 307–316. doi: [10.1007/s11120-016-0254-x](https://doi.org/10.1007/s11120-016-0254-x)

2. Цоглин Л.Н., Пронина Н.А. *Биотехнология микроводорослей*. М.: Научный мир, 2012. 182 с.
3. Гуревич Ю.Л., Ковров Б.Г. О новом принципе регулирования скорости роста микроорганизмов при непрерывном культивировании. *Доклады АН СССР*. 1967. Т. 174. № 1. С. 213.
4. Пономарев П.И., Гуревич Ю.Л. Характеристики непрерывной культуры водородных бактерий в условиях лимитирования газами. *Микробиология*. 1977. Т. 46. Вып. 1. С. 22–28.
5. de Vree J.H., Bosma R., Wieggers R., Gegic S., Janssen M., Barbosa M.J., Wijffels R.H. Turbidostat operation of outdoor pilot-scale photobioreactors. *Algal Research*. 2016. V. 18. P. 198–208. doi: [10.1016/j.algal.2016.06.006](https://doi.org/10.1016/j.algal.2016.06.006)
6. Fernandes B.D., Mota A., Teixeira J.A., Vicente A.A. Continuous cultivation of photosynthetic microorganisms: approaches, applications and future trends. *Biotechnology Advances*. 2015. V. 33. No. 6. P. 1228–1245. doi: [10.1016/j.biotechadv.2015.03.004](https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2015.03.004)
7. Боровков А.Б. Математическая модель светозависимого содержания пигментов в клетках микроводорослей для стационарного динамического равновесия хемотратной культуры. *Экология моря*. 2010. № 80. С. 17–24.
8. Стадничук И.Н., Тропин И.В. Фикобилипротеины: строение, функции и использование в биотехнологии. *Прикладная биохимия и микробиология*. 2017. Т. 53. № 1. С. 5–15. doi: [10.7868/S0555109917010184](https://doi.org/10.7868/S0555109917010184)
9. Ризниченко Г.Ю., Рубин А.Б. *Динамические модели электронного транспорта в фотосинтезе*. М.: Изд-во Института компьютерных исследований. 2020. 331 с.
10. Рубин А.Б., Кренделева Т.Е. Регуляция первичных процессов фотосинтеза. *Успехи биологической химии*. 2003. Т. 43. С. 225–266.
11. Remmers I.M., Hidalgo-Ulloa A., Brandt B.P., Evers W.A., Wijffels R.H., Lamers P.P. Continuous versus batch production of lipids in the microalgae *Acutodesmus obliquus*. *Bioresource Technology*. 2017. V. 244. No. 2. P. 1384–1392. doi: [10.1016/j.biortech.2017.04.093](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2017.04.093)
12. Baldissertotto C., Sabia A., Giovanardi M., Ferroni L., Maglie M., Pancaldi S. Chlorophyta microalgae as dietary protein supplement: A comparative analysis of productivity related to photosynthesis. *Journal of Applied Phycology*. 2022. V. 34. No. 3. P. 1323–1340. doi: [10.1007/s10811-022-02724-z](https://doi.org/10.1007/s10811-022-02724-z)
13. Тренкеншу Р.П., Новикова Т.М. Простейшие модели роста микроводорослей. 10. Динамика общего биохимического состава клеток. *Морской экологический журнал*. 2014. Т. 13. № 4. С. 71–78.
14. Тренкеншу Р.П., Лелеков А.С., Боровков А.Б., Новикова Т.М. Унифицированная установка для лабораторных исследований микроводорослей. *Вопросы современной альгологии*. 2017. Т. 13. №1. URL: algology.ru/1097 (дата обращения 30.07.2026).
15. Тренкеншу Р.П. Влияние элементов микроэлементного питания на продуктивность водоросли *Platymonas viridis* Rouch. *Биология моря*. 1979. Т. 51. С. 41–46.
16. Тренкеншу Р.П. Простейшие модели роста микроводорослей. 2. Квазинепрерывная культура. *Экология моря*. 2005. Т. 67. С. 98–110.
17. Kopytov Yu.P., Lelekov A.S., Gevorgiz R.G., Nekhoroshev M.V., Novikova T.M. The Method of Complex Determining of Biochemical Composition of Microalgae. *International Journal on Algae*. 2015. V. 17. No. 4. P. 397–402. doi: [10.1615/InterJAlgae.v17.i4.70](https://doi.org/10.1615/InterJAlgae.v17.i4.70)
18. Лелеков А.С., Тренкеншу Р.П. Фундаментальные принципы моделирования фотобиосинтеза микроводорослей. *Вопросы современной альгологии*. 2018. Т. 18. № 3. URL: algology.ru/1368 (дата обращения 14.05.2026).

19. Hong S.J., Park Y.S., Han M.A., Kim Z.H., Cho B.K., Lee H., ... Lee C.G. Enhanced production of fatty acids in three strains of microalgae using a combination of nitrogen starvation and chemical inhibitors of carbohydrate synthesis. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*. 2017. V. 22. No. 2. P. 60–67. doi: [10.1007/s12257-016-0575-9](https://doi.org/10.1007/s12257-016-0575-9)
20. Lee W.-K., Ryu Y.-K., Choi W.-Y., Kim T., Park A., Lee Y.-J., Jeong Y., Lee C.-G., Kang D.-H. Year-Round Cultivation of *Tetraselmis* sp. for Essential Lipid Production in a Semi-Open Raceway System. *Marine Drugs*. 2021. V. 19. No. 6. P. 314. doi: [10.3390/md19060314](https://doi.org/10.3390/md19060314)
21. Тренкеншу Р.П. Влияние света на макромолекулярный состав микроводорослей в непрерывной культуре невысокой плотности (Часть 1). *Вопросы современной альгологии*. 2017. Т. 14. № 2. URL: algology.ru/1180 (дата обращения 14.05.2026).
22. Shahid A., Khan F., Ahmad N., Farooq M., Mehmood M.A. Microalgal Carbohydrates and Proteins: Synthesis, Extraction, Applications, and Challenges. In: *Microalgae Biotechnology for Food, Health and High Value Products*. Eds.: Alam M., Xu J.L., Wang Z. Singapore: Springer, 2020. doi: [10.1007/978-981-15-0169-2_14](https://doi.org/10.1007/978-981-15-0169-2_14)
23. Sun H., Zhao W., Mao X., Li Y., Wu T., Chen F. High-value biomass from microalgae production platforms: strategies and progress based on carbon metabolism and energy conversion. *Biotechnol Biofuels*. 2018. V. 11. No. 227. doi: [10.1186/s13068-018-1225-6](https://doi.org/10.1186/s13068-018-1225-6)
24. Yao C.H., Ai J.N., Cao X.P., Xue S. Characterization of cell growth and starch production in the marine green microalga *Tetraselmis subcordiformis* under extracellular phosphorus-deprived and sequentially phosphorus-replete conditions. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2013. V. 97. No. 13. P. 6099–6110. doi: [10.1007/s00253-013-4983-x](https://doi.org/10.1007/s00253-013-4983-x)
25. Sui Y., Muys M., Vermeir P., D'Adamo S., Vlaeminck S.E. Light regime and growth phase affect the microalgal production of protein quantity and quality with *Dunaliella salina*. *Bioresource Technology*. 2019. V. 275. P. 145–152. doi: [10.1016/j.biortech.2018.12.046](https://doi.org/10.1016/j.biortech.2018.12.046)
26. Тренкеншу Р.П. Новикова Т.М. Простейшие модели роста микроводорослей 10. Динамика общего биохимического состава клеток. *Морской экологический журнал*. 2014. Т. 13. № 4. С. 71–78.
27. Тренкеншу Р.П., Лелеков А.С., Новикова Т.М. Линейный рост морских микроводорослей в культуре. *Морской биологический журнал*. 2018. Т. 3. № 1 С. 53–60. doi: [10.21072/mbj.2018.03.1.06](https://doi.org/10.21072/mbj.2018.03.1.06)

Рукопись поступила в редакцию 20.02.2026, переработанный вариант поступил 06.05.2026.
Дата опубликования 03.08.2026.

===== MATHEMATICAL MODELING =====

Modeling the Protein Content in the Biomass of Microalgae in the Ratestat Mode

Novikova T.M., Trenkenshu R.P., Lelekov A.S., Borovkov A.B.

A. O. Kovalevsky Institute of Biology of the Southern Seas of RAS, Sevastopol, Russia

Abstract. The paper considers one of the types of continuous cultivation of microalgae with a set initial density of culture and a fixed time between dilutions. This mode has been given the term "ratetstat". It allows for the production of

microalgae cultures that are unlimited in terms of biogenic elements, light, pH, and temperature, resulting in the stabilization of the biochemical composition of the biomass. After the culture adapting to the given external conditions, a constant productivity is obtained, and the dynamics of protein content in the biomass is studied at different stationary densities of the culture. By changing the stationary density, a culture with different light supply per unit of biomass is obtained. The aim of the work is to develop a mathematical model that allows us to explain the dynamics of protein accumulation in the biomass using the example of the green microalgae *Teraselmis viridis* in the ratetstat mode. When describing the biotransformation of biochemical substances, protein is chosen as the most significant component of the biomass of a physiologically active culture. In addition, protein is an integral component of the cell structure, which allows us to mathematically express the cell structures through its content. Experimental data on the protein content in the biomass and the productivity of *T. viridis* in a continuous cultivation mode for different stationary states of the culture are presented. The mathematical model is based on the assumption that in the ratetstat mode, the specific rate of protein synthesis is directly proportional to the amount of absorbed light energy per unit of the key multi-enzyme complex, where energy exchange reactions occur. It is assumed that some of the cellular proteins are destroyed during oxidative reactions at a constant specific rate. Analytical equations are obtained that describe the daily dynamics of the total protein concentration depending on the *T. viridis* biomass.

Key words: *specific growth rate, specific rate of protein synthesis, protein production, linear growth, reduced luminous flux, light absorption coefficient*