

<https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-2-53-58>
УДК 615.322:543.42



Оригинальная статья / Research article

Фармакотехнологические исследования биомассы *Chlorella vulgaris* C-2019 как перспективного источника получения антибактериальных веществ

А. В. Митишев¹✉, Е. Е. Курдюков¹, Е. Ф. Семенова², Т. М. Фадеева¹, И. Я. Моисеева¹,
Я. П. Моисеев¹

¹ ФГБОУ ВО «Пензенский государственный университет» (ФГБОУ ВПО «ПГУ»), 440026, Россия, г. Пенза, ул. Красная, д. 40

² Медицинская академия имени С. И. Георгиевского ФГАОУ ВО «Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского» (Медакадемия им. С. И. Георгиевского ФГАОУ ВО «КФУ им. В. И. Вернадского»), 295007, Россия, Республика Крым, г. Симферополь, проспект Академика Вернадского, д. 4

✉ Контактное лицо: Митишев Александр Владимирович. E-mail: span2361@rambler.ru

ORCID: А. В. Митишев – <http://orcid.org/0000-0002-3327-9744>; Е. Е. Курдюков – <http://orcid.org/0000-0001-9512-6770>; Е. Ф. Семенова – <http://orcid.org/0000-0002-1204-7864>;
Т. М. Фадеева – <http://orcid.org/0000-0001-8315-0888>; И. Я. Моисеева – <http://orcid.org/0000-0003-1168-2871>; Я. П. Моисеев – <http://orcid.org/0000-0002-1342-9776>.

Статья поступила: 09.03.2021

Статья принята в печать: 19.04.2022

Статья опубликована: 25.05.2022

Резюме

Введение. В настоящее время активно ведутся исследования, направленные на поиск новых биообъектов как источников биологически активных веществ. Это необходимо для того, чтобы получить продуценты, которые будут выгодны в культивировании, поддержании их жизнедеятельности и получении на выходе достаточного количества и высокого качества целевых продуктов. Одним из таких источников могут быть микро- и макроводоросли.

Цель. Целью настоящего исследования является проведение фитохимического анализа для подтверждения наличия широкого спектра БАС, а также исследований по выбору оптимальных параметров экстрагирования биомассы хлореллы C-2019 с целью получения экстрактов с высоким содержанием БАС, обладающих антибактериальным действием (пигменты, флавоноиды).

Материалы и методы. Объектом исследования являлась воздушно-сухая биомасса штамма *Chlorella vulgaris* Beyerinck ИФР C-2019. Влажность, фракционный состав, зольность, экстрактивные вещества определяли по ГФ XIV, 2018. В работе использованы спектрофотометрический, ГЖХ методы, а также метод капельного электрофореза.

Результаты и обсуждение. В результате фитохимического анализа были определены основные БАС биомассы хлореллы штамма C-2019. Доказано наличие белков (64 %), жирных кислот (7 %), фенольных соединений (1,56 %), пигментов (2,46 %), макро- и микроэлементов. Оптимальным соотношением сырье – экстрагент является 1:50. Повышение температуры и продолжительности экстракции увеличивало выход основных БАС.

Заключение. Определен фитохимический состав перспективного растительного сырья. Установлены оптимальные условия экстракции биомассы хлореллы при получении экстракта: соотношение сырье – экстрагент (1:50), экстрагент спирт этиловый 95%-й, температура экстракции 60–80 °С, трехкратная экстракция в течении 60, 60, 60 мин.

Ключевые слова: микроводоросли, *Chlorella vulgaris*, биомасса хлореллы, дробная мацерация, хлорофиллы, каротиноиды, флавоноиды

Конфликт интересов. Авторы декларируют отсутствие явных и потенциальных конфликтов интересов, связанных с публикацией настоящей статьи.

Вклад авторов. А. В. Митишев, Е. Е. Курдюков, Е. Ф. Семенова, Т. М. Фадеева, И. Я. Моисеева придумали и разработали эксперимент. А. В. Митишев, Е. Е. Курдюков, Я. П. Моисеев провели эксперимент, участвовали в обработке данных и в написании текста статьи. Все авторы участвовали в обсуждении результатов.

Для цитирования: Митишев А. В., Курдюков Е. Е., Семенова Е. Ф., Фадеева Т. М., Моисеева И. Я., Моисеев Я. П. Фармакотехнологические исследования биомассы *Chlorella vulgaris* C-2019 как перспективного источника получения антибактериальных веществ. *Разработка и регистрация лекарственных средств*. 2022;11(2):53–58. <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-2-53-58>

Pharmacotechnological Studies of the Biomass of *Chlorella vulgaris* C-2019 as a Promising Source of Antibacterial Substances

Alexander V. Mitishev¹✉, Evgeniy E. Kurdyukov¹, Elena F. Semenova², Tatyana M. Fadeeva¹,
Inessa Ya. Moiseeva¹, Yakov P. Moiseev¹

¹ Penza State University, 40, Krasnaya str., Penza, 440026, Russia

² Medical Academy named after S.I. Georgievsky of Vernadsky CFU, 4, Prospekt Vernadsky, Simferopol, Republic of Crimea, 295007, Russia

✉ Corresponding author: Alexander V. Mitishev. E-mail: span2361@rambler.ru

ORCID: Alexander V. Mitishev – <http://orcid.org/0000-0002-3327-9744>; Evgeniy E. Kurdyukov – <http://orcid.org/0000-0001-9512-6770>;
Elena F. Semenova – <http://orcid.org/0000-0002-1204-7864>; Tatyana M. Fadeeva – <http://orcid.org/0000-0001-8315-0888>;
Inessa Ya. Moiseeva – <http://orcid.org/0000-0003-1168-2871>; Yakov P. Moiseev – <http://orcid.org/0000-0002-1342-9776>.

Received: 09.03.2021

Revised: 19.04.2022

Published: 25.05.2022

© Митишев А. В., Курдюков Е. Е., Семенова Е. Ф., Фадеева Т. М., Моисеева И. Я., Моисеев Я. П., 2022

© Mitishev A. V., Kurdyukov E. E., Semenova E. F., Fadeeva T. M., Moiseeva I. Ya., Moiseev Ya. P., 2022

Abstract

Introduction. Currently, research is being actively conducted to find new biological objects as sources of biologically active substances. This is necessary in order to obtain producers who will be profitable in cultivating, maintaining their vital activity and obtaining at the output a sufficient number and high quality of the target products. Micro- and macroalgae can be one of these sources.

Aim. The aim of this study is to conduct a phytochemical analysis to confirm the presence of a wide range of BAC, as well as studies on the selection of optimal parameters for extracting chlorella C-2019 biomass in order to obtain extracts with a high content of BAC that have an antibacterial effect (pigments, flavonoids).

Materials and methods. The object of the study was the biomass of the strain *Chlorella vulgaris* Beyerinck IPPAS C-2019. The fractional composition, humidity, ash content, and extractive substances were determined according to GF XIV, 2018. The work uses spectrophotometric, GLC methods, as well as the method of drip electrophoresis.

Results and discussions. As a result of phytochemical analysis, the main BAC of chlorella biomass of strain C-2019 were determined. The presence of proteins (64 %), fatty acids (7 %), phenolic compounds (1.56 %), pigments (2.46 %), macro – microelements has been proven. The optimal raw material-extractant ratio is 1 : 50. Increasing the temperature and duration of extraction increased the yield of the main BAC.

Conclusion. The phytochemical composition of promising plant raw materials is determined. The optimal conditions for the extraction of chlorella biomass in the preparation of the extract are established: the ratio of raw materials:extractant 1 : 50, extractant ethyl alcohol 95 %, extraction temperature 60–80 °C, triple extraction for 60, 60, 60 minutes.

Keywords: microalgae, *Chlorella vulgaris*, chlorella biomass, fractional maceration, chlorophylls, carotenoids, flavonoids

Conflict of interest. The authors declare that they have no obvious and potential conflicts of interest related to the publication of this article.

Contribution of the authors. Alexander V. Mitishev, Evgeniy E. Kurdyukov, Elena F. Semenova, Tatyana M. Fadeeva, Inessa Ya. Moiseeva came up with and developed the experiment. Alexander V. Mitishev, Evgeniy E. Kurdyukov, Yakov P. Moiseev conducted an experiment, participated in data processing and participated in writing the text of the article. All the authors participated in the discussion of the results.

For citation: Mitishev A. V., Kurdyukov E. E., Semenova E. F., Fadeeva T. M., Moiseeva I. Ya., Moiseev Ya. P. Pharmacotechnological studies of the biomass of *Chlorella vulgaris* C-2019 as a promising source of antibacterial substances. *Drug development & registration*. 2022;11(2):53–58. (In Russ.) <https://doi.org/10.33380/2305-2066-2022-11-2-53-58>

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время активно ведутся поисковые исследования новых биообъектов как источников биологически активных веществ [1]. Это необходимо для того, чтобы получить продуценты, которые будут выгодны в культивировании, поддержании их жизнедеятельности и получении на выходе достаточного количества и высокого качества целевых продуктов. Одним из таких источников могут быть микро- и макроводоросли [2]. Различные штаммы микроводоросли *Chlorella* являются объектами, которые в последнее время привлекают внимание как коммерчески ценные источники широкого спектра соединений [3, 4].

Штаммы хлореллы имеют свои естественные системы для борьбы с бактериями в водной среде. Так, например, этанольный экстракт *Chlorella minutissima* был активен к *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa*; водный, метанольный и гексановый экстракты *Chlorella vulgaris* оказывали воздействие на *B. subtilis*, *S. epidermidis*, *S. typhi* [5, 6]. Антимикробную активность экстрактов связывают с различными веществами, такими как жирные кислоты, фенольные соединения, пигменты, полисахариды, галогенированные углеводороды.

Механизм антибактериального действия пигментов (каротиноиды, фикобилипротеины, производные хлорофилла), фенольных соединений (флавоноидов –

рутин, кверцетин и кемпферол) и свободных жирных кислот (эйкозапентаеновая кислота, гексадекатриеновая кислота, докозагексаеновая кислота, пальмитолеиновая кислота) связан с их способностью разрушать клеточную стенку бактерий, а полисахаридов увеличивать проницаемость цитоплазматической мембраны [7].

Несомненно, химическая структура биологически активных соединений водорослей отлична от современных антибиотиков, поэтому лекарственные препараты на основе микроводорослей могут оказаться эффективной альтернативой в терапии бактериальных инфекций [7, 8].

Одним из перспективных продуцентов, способных накапливать данные вещества, является новый штамм *Chlorella vulgaris* Beyerinck ИФР C-2019. Штамм отличается высокой скоростью роста и проявляет хорошо выраженные антагонистические свойства при плотности клеток в культуре более 10 млн/мл, гибель бактерий наступает через 6–10 часов культивирования.

В связи с этим **целью настоящего исследования** является проведение фитохимического анализа для подтверждения наличия широкого спектра БАС, а также исследований по выбору оптимальных параметров экстрагирования биомассы хлореллы C-2019 с целью получения экстрактов с высоким содержанием БАС, обладающих антибактериальным действием (пигменты, флавоноиды).

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Объектом исследования являлась воздушно-сухая биомасса штамма *Chlorella vulgaris* Beyerinck ИФР С-2019, выращенная глубинным методом на среде Тамия. Влажность, фракционный состав, зольность, экстрактивные вещества определяли по ГФ XIV, 2018 [9]. Протеин определяли методом Кьельдаля. Аминокислотный состав анализировали методом капельного электрофореза на системе капиллярного электрофореза «КАПЕЛЬ»-105М» (ООО «Люмэкс», Россия) [10]. Содержания жира – методом обезжиренного остатка в аппаратах Сокслета (в качестве экстрагента использовали петролейный эфир). Изучение жирно-кислотного состава проводили методом газожидкостной хроматографии после предварительного перевода жирных кислот в метиловые эфиры по методике ГОСТ 31665-2012 на газовом хроматографе «Кристалл 2000М» с капиллярной колонкой HP-FFAP длиной 50 м, внутренним диаметром 0,32 мм, толщиной фазы 0,50 мкм. Содержания фосфора – путем озоления по Пиневиц в модификации Куркаева – спектрофотометрическим методом при длине волны 670 нм; кальций, цинк, железо – комплексонометрией; содержание клетчатки – методом по Геннебергу и Штоману в модификации ЦИНАО [11]. Количественное содержание хлорофиллов, каротиноидов и флавоноидов проводили спектрофотометрическим методом на спектрофотометре СФ-201 (ЗАО «НПКФ Аквилон», Россия) [12]. Экстракты получали при температуре от 25 до 80 °С методом дробной мацерации. В качестве экстрагентов были использованы: вода очищенная и растворы этанола в концентрации от 30 до 95 %. Соотношение сырье – экстрагент от 1:5 до 1:100 (по массе). Дробную мацерацию проводили при перемешивании с использованием термостатируемого универсального шейкера LOIP LS-110 (ООО «Экрос-Аналитика», Россия), скорость вращения 170 об/мин. Статистическую обработку результатов исследования выполняли согласно ГФ XIV, вып. 1, ОФС.1.1.0013.15 [9].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Измельченная воздушно-сухая биомасса *Chlorella vulgaris* С-2019, выращенная способом глубинного культивирования на питательной среде Тамия, представляет собой бесформенные частицы различной формы и размера темно-зеленого цвета, легкие, оставляющие следы при растирании, имеющие специфический запах и вкус. Результаты фитохимического анализа представлены в таблице 1.

По результатам исследования фракционного состава, представленным в таблице 1, в порошке биомассы хлореллы штамма ИФР С-2019 присутствуют частицы размером от 0,125 до 0,5 мм, причем большинство частиц порошка биомассы имеет размеры 0,125–0,160 мм.

Согласно данным исследования альгомаасса *Chlorella vulgaris* ИФР С-2019 содержит большое количество белка.

Таблица 1. Фитохимический анализ порошка биомассы *Chlorella vulgaris* С-2019

Table 1. Phytochemical Analysis of biomass powder *Chlorella vulgaris* С-2019

Показатель Index	Опытные данные Experimental data
Фракционный состав, % Fractional composition	
>0,5	0,06
0,25 > x < 0,5	0,23
0,160 > x < 0,25	6,33
0,125 > x < 0,160	92
<0,125	1,38
Насыпная плотность, г/см ³ Apparent density, g/cm ³	0,66 ± 0,01
Влажность, % Moisture, %	5,75 ± 0,18
Зола, % Ash, %	5,27 ± 0,06
Протеин, % Protein, %	64,61 ± 0,49
Жир, % Fat, %	7,46 ± 0,10
Жирные кислоты, % Fatty acid, %	Линолевая кислота – 30,30 Линоленовая кислота – 6,70 Стеариновая кислота – 2,56 Пальмитиновая кислота – 15,06 Пальмитолеиновая кислота – 18,78 Linoleic acid – 30.30 Linolenic acid – 6.70 Stearic acid – 2.56 Palmitic acid – 15.06 Palmitoleic acid – 18.78
Клетчатка, % Vegetable Fiber, %	5,85 ± 0,33
Фосфор, % Phosphorus, %	1,65 ± 0,24
Каротиноиды, % Carotenoids, %	0,5 ± 0,07
Хлорофиллы, % Chlorophylls, %	1,96 ± 0,11
Флавоноиды, % Flavonoids, %	1,56 ± 0,09

В результате проведенного аминокислотного анализа белка биомассы хлореллы выявлены 14 аминокислот, в том числе незаменимые, содержащиеся в высоких концентрациях (рисунок 1). Так же установлено, что биомасса хлореллы С-2019 содержит 9 жирных кислот с преобладанием полиненасыщенных, основная масса которых приходится на линолевую (30,30 %), пальмитиновую (15,06 %) и пальмитолеиновую (18,78 %) кислоты. В золе биомассы хлореллы С-2019 присутствуют, в значительных количествах, макро- и микроэлементы (фосфор, железо, кальций, цинк и др.). При проведении качественного анализа биомассы С-2019 были обнаружены флавоноиды, каротиноиды и хлорофиллы (см. таблицу 1).

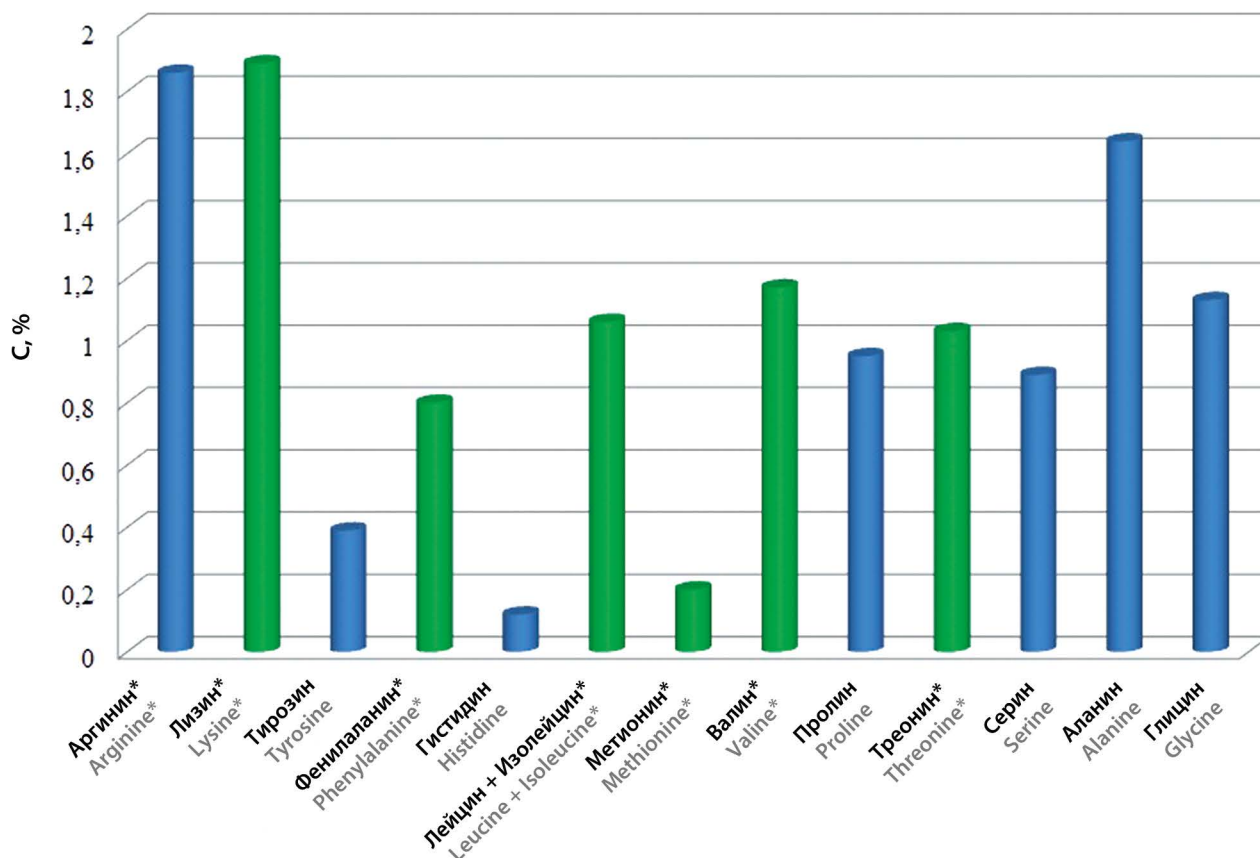


Рисунок 1. Аминокислотный состав биомассы хлореллы (кислотный гидролиз):

* – незаменимые аминокислоты

Figure 1. Amino acid composition of chlorella biomass (acid hydrolysis):

* – essential amino acids

Согласно данным источников литературы, БАС хлореллы, обладающими антибактериальной активностью, являются флавоноиды и пигменты. Следовательно, при проведении исследований по подбору оптимальных параметров экстрагирования биомассы хлореллы С-2019 целесообразно ориентироваться на данные группы веществ. На первом этапе исследования было изучено влияние степени измельчения на полноту экстракции сырья. В результате установлено, что измельчение альгомаcсы до 0,125–0,160 мм способствовало полному извлечению БАС экстрагентом. Вторым этапом исследования являлось изучение влияния природы экстрагента на выход БАС и качественный состав экстракта. Проведенное сравнительное исследование показало, что больше всего экстрактивных веществ извлекается водой (29,83 %), суммы флавоноидов, каротиноидов и хлорофиллов – 90–95 %, спиртом – 0,56–0,83, 0,18–0,19 и 0,58–0,64 % соответственно (таблица 2).

Следующим этапом изучения оптимальных параметров экстракции было проведение эксперимента по определению оптимального соотношения сы-

рье – экстрагент. Согласно данным эксперимента, оптимальным соотношением сырье – экстрагент явилось 1:50 (таблица 3), при котором выход БАС, обладающих антибактериальным действием, из биомассы хлореллы составил $72,83 \pm 0,5$ %. Затем были определены температурные параметры экстракции, обнаружено, что при повышении температуры экстракции с 25 до 80 °C увеличивается выход БАС в 3–4 раза (рисунок 2), при этом время установления равновесия составляет 30–45 мин. При дальнейшем повышении температуры не наблюдалось увеличения концентрации БАС.

Заключительным этапом являлось определение кратности экстракции сырья. Многоступенчатая экстракция в течение 3 часов (трехкратная экстракция этанолом в течение 60, 60, 60 мин при 80 °C) способствовала более полному извлечению БАС, при этом 65 % извлекается первой порцией экстрагента, 25 % второй и 10 % третьей.

При дальнейшем увеличении продолжительности процесса содержание БАС в экстракте значительно не увеличивается.

Таблица 2. Зависимость концентрации извлекаемых БАС от экстрагента

Table 2. Dependence of the concentration of extracted BAS on the extractant

Экстрагент Extractant БАС, % BAS, %	Вода Water	Спирт этиловый, %, об. Ethanol, %, vol.						
		30	40	50	70	80	90	95
Экстрактивные вещества Extractive substances	29,83 ± 0,53	10,11 ± 0,21	6,40 ± 0,12	6,98 ± 0,11	3,78 ± 0,04	5,04 ± 0,05	8,15 ± 0,04	7,30 ± 0,06
Сумма хлорофиллов Total Chlorophylls	0,06 ± 0,01	0,10 ± 0,01	0,05 ± 0,01	0,01 ± 0,01	0,10 ± 0,02	0,19 ± 0,04	0,58 ± 0,03	0,64 ± 0,09
Сумма каротиноидов Total Carotenoids	0,01 ± 0,01	0,06 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,02 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,08 ± 0,01	0,18 ± 0,01	0,19 ± 0,03
Сумма флавоноидов Total Flavonoids	0,09 ± 0,01	0,10 ± 0,04	0,19 ± 0,08	0,22 ± 0,07	0,31 ± 0,01	0,43 ± 0,04	0,56 ± 0,06	0,83 ± 0,08

Таблица 3. Зависимость выхода БАС от соотношения сырье – экстрагент

Table 3. Dependence of the BAS output on the ratio raw material–extractant

Соотношение сырье – экстрагент Ratio «raw material – extractant»	Экстрактивные вещества Extractive substances	Сумма хлорофиллов Total Chlorophylls	Сумма каротиноидов Total Carotenoids	Сумма флавоноидов Total Flavonoids
1:05	7,90 ± 0,06	0,23 ± 0,01	0,17 ± 0,02	0,22 ± 0,06
1:10	7,30 ± 0,11	0,64 ± 0,02	0,18 ± 0,02	0,71 ± 0,03
1:20	7,83 ± 0,08	0,69 ± 0,03	0,23 ± 0,05	0,86 ± 0,06
1:30	7,89 ± 0,05	0,75 ± 0,02	0,25 ± 0,03	1,13 ± 0,09
1:50	14,13 ± 0,09	1,80 ± 0,06	0,52 ± 0,09	1,50 ± 0,13
1:100	20,10 ± 0,42	1,10 ± 0,11	0,32 ± 0,02	1,21 ± 0,11

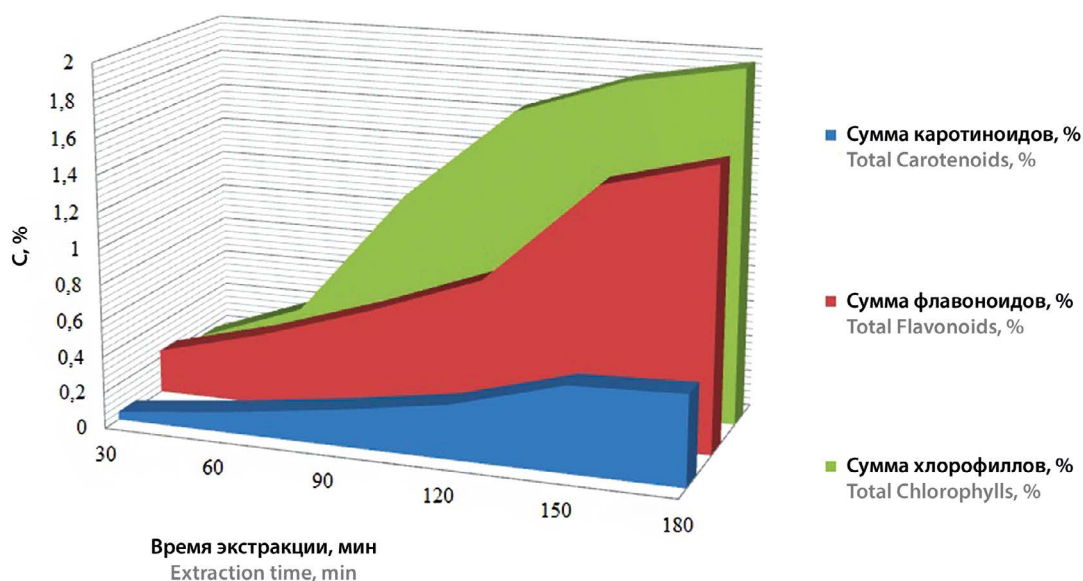


Рисунок 2. Концентрация основных веществ при температуре экстракции 80 °C

Figure 2. The concentration of the main substances at the extraction temperature of 80 °C

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное фитохимическое исследование биомассы *Chlorella vulgaris* Beyerinck ИФР С-2019 позволило выявить широкий спектр БАС. Биомасса хлореллы штамма С-2019 характеризуется высоким содержанием белка (64 %), аминокислот, в том числе

незаменимых (12,27 %), жирных кислот (7 %) с преобладанием полиненасыщенных, основная масса которых приходится на линолевую (30,30 %), пальмитиновую (15,06 %) и пальмитолеиновую (18,78 %) кислоты, а также были обнаружены флавоноиды (1,56 %), каротиноиды (0,5 %) и хлорофиллы (1,96 %). В золе биомассы хлореллы С-2019 присутствуют, в значи-

тельных количествах, макро- и микроэлементы (фосфор, железо, кальций, цинк и др.).

Установлены оптимальные условия экстракции биомассы хлореллы при получении экстракта, содержащего высокие концентрации БАС: соотношение сырье – экстрагент (1:50), экстрагент спирт этиловый 95%-й, t экстракции 60–80 °С, трехкратная экстракция в течение 60, 60, 60 мин.

Таким образом, *Chlorella vulgaris* Beyerinck ИФР С-2019 является перспективным лекарственным сырьем и может служить источником биологически активных соединений (белки, жирные кислоты, пигменты, фенольные соединения), используемых в медицине и ветеринарии.

ЛИТЕРАТУРА

- Andrade L. M., Andrade C. J., Dias M., Nascimento C. A., Mendes M. A. Microalgae for bioremediation of textile wastewater: An overview. *MOJ Food Process Technology*. 2018;6(1):45–58. DOI: 10.15406/MOJFPT.2018.06.00200.
- Barkia I., Saari N., Manning S. R. Microalgae for high-value products towards human health and nutrition. *Marine Drugs*. 2019;17(5):E304. DOI: 10.3390/md17050304.
- Abd El-Baky H. H., El-Baroty G. S. Characterization and bioactivity of phycocyanin isolated from *Spirulina maxima* grown under salt stress. *Food & Function*. 2012;3:381–388. DOI: 10.1039/c2fo10194g.
- Guedes A. C., Catarina R. B., Helena M. A., Pereira C. I., Francisco X. M. Microalgal and cyanobacterial cell extracts for use as natural antibacterial additives against food pathogens. *Journal of Food Science and Technology*. 2011;46:862–870. DOI:10.1111/j.1365-2621.2011.02567.x.
- Falaise C., François C., Travers M. A., Morga B., Haure J. Antimicrobial compounds from eukaryotic microalgae against human pathogens and diseases in aquaculture. *Marine Drugs*. 2016;14:159. DOI: 10.3390/md14090159.
- Pane G., Cacciola G., Giacco E., Mariottini G., Coppo E. Assessment of the Antimicrobial Activity of Algae Extracts on Bacteria Responsible of External Otitis. *Marine Drugs*. 2015;13:6440–6452. DOI: 10.3390/md13106440.
- Ramaraj S., Ramalingam R., Abeer H., Elsayed F. A. Microalgae metabolites: A rich source for food and medicine Saudi. *Journal of Biological Sciences*. 2019;26:709–722. DOI: 10.1016/j.sjbs.2017.11.003.
- Lu Y. M., Xiang W., Yong-Huang W. *Spirulina* industry in Inner Mongolia of China: current status and prospects. *Journal of Applied Phycology*. 2011;23:265–269. DOI: 10.1007/s10811-010-9552-4.
- State Pharmacopoeia of the Russian Federation. Ed. XIV. Tom 2. Moscow: Ministerstvo zdravookhraneniya Rossiyskoy Federatsii; 2018. 3262 p. (In Russ.)
- Method of measuring the mass fraction of amino acids by capillary electrophoresis using the capillary electrophoresis system "Kapel" M-04-38-2009. Saint Petersburg: ООО «Ljumjeks-marketing»; 2014. 49 p. (In Russ.)
- Tikunova I. V., Drobnitskaya N. V., Artemenko A. I. Reference guide to analytical chemistry and physico-chemical methods of analysis. Moscow: Vysshaja shkola; 2009. 413 p. (In Russ.)
- Beljakov K. V. Methodological approaches to the determination of biologically active substances in medicinal plant raw materials by the spectrophotometric method. Moscow: Medicina; 2004. 186 p. (In Russ.)

REFERENCES

- Andrade L. M., Andrade C. J., Dias M., Nascimento C. A., Mendes M. A. Microalgae for bioremediation of textile wastewater: An overview. *MOJ Food Process Technology*. 2018;6(1):45–58. DOI: 10.15406/MOJFPT.2018.06.00200.
- Barkia I., Saari N., Manning S. R. Microalgae for high-value products towards human health and nutrition. *Marine Drugs*. 2019;17(5):E304. DOI: 10.3390/md17050304.