

НАЦІОНАЛЬНА АКАДЕМІЯ НАУК УКРАЇНИ  
ДЕРЖАВНА УСТАНОВА  
«ІНСТИТУТ ХАРЧОВОЇ БІОТЕХНОЛОГІЇ ТА ГЕНОМІКИ  
НАЦІОНАЛЬНОЇ АКАДЕМІЇ НАУК УКРАЇНИ»

**ДОРОШ ІРИНА ВОЛОДИМИРІВНА**



УДК 582.263.1:[604.2:547.979.8]

**ОПТИМІЗАЦІЯ УМОВ КУЛЬТИВУВАННЯ БІОМАСИ  
МІКРОВОДОРОСТЕЙ ЯК ДЖЕРЕЛА КОМПЛЕКСУ НУТРИЄНТІВ**

03.00.20 – біотехнологія

**Автореферат**  
дисертації на здобуття наукового ступеня  
кандидат біологічних наук

Київ – 2025

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в Чернівецькому національному університеті імені Юрія Федьковича Міністерства освіти і науки України

**Науковий керівник:** доктор біологічних наук, професор  
**Марченко Михайло Маркович,**  
Чернівецький національний університет  
імені Юрія Федьковича, професор кафедри  
біохімії та біотехнології

**Офіційні опоненти:** доктор біологічних наук, професор  
**Дуган Олексій Мартем'янович,**  
Національний технічний університет України  
«Київський політехнічний інститут  
імені Ігоря Сікорського», професор кафедри  
промислової біотехнології та біофармації

кандидат біологічних наук,  
старший науковий співробітник  
**Корховий Віталій Іванович,**  
Державна установа «Інститут харчової біотехнології та  
геноміки Національної академії наук України», старший  
науковий співробітник лабораторії проблем біобезпеки  
відділу клітинної біології і біотехнології

Захист відбудеться **16 квітня 2025** р. о **13<sup>30</sup>** годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 26.254.01 при ДУ «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України» за адресою: м. Київ, вул. Байди-Вишневецького (Осиповського), 2а, 04123, тел/факс. (044) 463-05-32

З дисертацією можна ознайомитись в бібліотеці ДУ «Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України» за адресою: м. Київ, вул. Байди-Вишневецького (Осиповського), 2а та на офіційному сайті <http://ifbg.or.ua/uk/pidgotovka-kadriv/specializovana-vchena-rada>

Автореферат розісланий « \_\_\_ » березня 2025 р.

Вчений секретар спеціалізованої ради  
к.б.н., доцент



Наталія ПАСТУХОВА

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Обґрунтування вибору теми дослідження.** У галузі сучасної біотехнології та аквакультури надзвичайно важливою є розробка методів, які дозволяють раціонально використовувати та відтворювати водні біоресурси. Постійний ріст попиту на біомасу водних мікроорганізмів, зокрема одноклітинних водоростей, які становлять основу природних кормів для планктоноїдних риб, молюсків та зоопланктону, створює необхідність у пошуку ефективних методів їхнього вирощування. Крім того, тільки шляхом зміни складу живильного середовища можна досягти покращення продуктивних характеристик отриманої біомаси мікроводоростей (Vec at al., 2003; Cottigham at al., 2004; Kar at al., 2017).

Тому актуальною є потреба пошуку альтернативних живильних середовищ, які б ефективно забезпечували водорості необхідними поживними речовинами, а також зменшували витрати на їхнє вирощування. Ці дослідження сприяють також розумінню можливостей оптимізації використання водних ресурсів (Вогнівенко та ін., 2009; Ansari et al., 2017; De Alva et al., 2011; Khudiyi et al., 2016).

Використання скидної води із УЗВ дозволить здешевити процес культивування, але для отримання біомаси із підвищеним вмістом цільових продуктів слід застосовувати також і певні стимулятори нарощення біомаси. Дослідження, які включають вплив різних добавок на процеси культивування мікроводоростей, відкривають широкі можливості для розвитку сучасної аквакультури. Оскільки при розведенні риб в умовах аквакультури склад кормів формується штучно, введення каротиноїдів до раціону харчування є дуже важливим. Останні є незамінними компонентами кормів та преміксів у аквакультурі риб та ракоподібних. Аналіз впливу таких параметрів, як концентрація індукторів каротиногенезу та осморегуляторів, на вміст каротиноїдів у мікроводоростях може стати основою для розробки нових методів підвищення їхньої продуктивності (Ahmad et al., 2022; Castro et al., 2020; Roy et al., 2016).

Вивчення динаміки взаємодії мікроводоростей та зоопланктону в аквакультурних системах відкриває можливості для оптимізації вирощування обох груп організмів. Розуміння цих взаємозв'язків дозволить розробити ефективніші стратегії управління аквакультурними екосистемами та підвищити їхню стійкість. Такі дослідження мають велике значення для промислових аквакультурних підприємств, оскільки можуть стати основою для розробки нових технологій вирощування водних біоресурсів (Ottinger et al., 2016; Ovie et al., 2002; Roy et al., 2016).

Експериментальні дослідження, спрямовані на аналіз процесу культивування, виявляються часо- і ресурсозатратними. Розробка математичних моделей та програмних продуктів дозволить ефективно узагальнити ці результати та прогнозувати хід досліджень при різних умовах. Такі моделі стануть не лише інструментом для аналізу експериментальних даних, але й дадуть можливість оптимізувати умови культивування та раціонально

використовувати ресурси у виробництві мікроводоростей (Luong, 1987; Muller, 2015; Sousa et al., 2021).

**Зв'язок роботи з науковими темами.** Дисертаційну роботу виконано на кафедрі біохімії та біотехнології Навчально-наукового інституту біології, хімії та біоресурсів Чернівецького національного університету імені Юрія Федьковича в рамках науково-дослідних тем: «Біохімічні принципи застосування нутрієнтних факторів і вторинних метаболітів про- та еукаріот в попередженні і корекції патологічних станів» (№ 0111U002503), «Біотехнологічні підходи корекції функціонального стану та підвищення репродуктивного потенціалу об'єктів аквакультури» (№ 0120U102118).

**Мета і завдання дослідження.** Метою дослідження була розробка підходів та принципів отримання та застосування каротиновмісної біомаси зелених водоростей *Desmodesmus armatus* (Chod.) Hegew. та *Acutodesmus dimorphus* (Turpin) Tsarenko.

Для цього передбачається оптимізувати умови культивування, дослідити динаміку біохімічних показників культур, вплив добавок на продуктивність, а також розробити математичну модель та програмний продукт для прогнозування процесу накопичення каротиноїдів.

Для досягнення поставленої мети вирішували наступні завдання:

1. Оптимізувати умови культивування зелених водоростей *Desmodesmus armatus* та *Acutodesmus dimorphus* на скидній воді із УЗВ.
2. Дослідити динаміку основних морфологічних та біохімічних показників альгокультур в умовах накопичувального культивування.
3. Проаналізувати вплив індукторів каротиногенезу на процеси культивування мікроводоростей для з'ясування їхнього потенціалу для підвищення продуктивності культури.
4. Дослідити особливості накопичення каротиноїдів та їх фракційний склад у біомасі досліджуваних культур.
5. Розглянути перспективні схеми сумісного культивування фіто- та зоопланктону.
6. Розробити математичну модель біотехнологічного процесу накопичення каротиноїдів у досліджуваних культурах.
7. Розробити програмний продукт для прогнозування динаміки накопичення біомаси, цільових продуктів та витрати субстрату в умовах *in vitro*.

**Об'єкт дослідження** – біотехнологія отримання біомаси зелених водоростей *Desmodesmus armatus* та *Acutodesmus dimorphus* на скидній воді з УЗВ, з метою вивчення динаміки їхнього росту та біохімічного складу, впливу добавок на процеси культивування, накопичення каротиноїдів, можливостей сумісного культивування з іншими видами планктону, розробки математичної моделі та програмного продукту для прогнозування динаміки культури.

**Предмет дослідження** – можливість застосування скидної води із УЗВ та використання комплексного препарату органічного походження при культивуванні кормових мікроводоростей; вплив індукторів каротиногенезу на накопичення цільових метаболітів у біомасі мікроводоростей *D. armatus* та *A.*

*dimorphus*; можливість використання мікроводоростей з удосконаленим нутрієнтним складом як корми для *Cladocera*; можливість оптимізувати процес вивчення досліджуваних культур шляхом побудови математичної моделі та розробки програмного продукту, що дасть змогу описати динаміку накопичення біомаси, цільових продуктів та витрати субстрату з мінімальною кількістю експериментів.

**Методи досліджень:** накопичувальне культивування клітин мікроводоростей; сумісне культивування фіто- і зоопланктону, світлова мікроскопія, спектрофотометричні та фотоколориметричні методи визначення вмісту білків, ліпідів, пігментів; методи визначення ферментативної активності; хроматографічний аналіз амінокислот, методи кількісного та якісного аналізу каротиноїдів; методи статистики та комп'ютерного моделювання.

**Наукова новизна роботи.** Розроблено умови накопичувального культивування мікроводоростей *D. armatus* та *A. dimorphus* на скидній воді із УЗВ. Показана можливість корекції нутрієнтного складу культур *D. armatus* та *A. dimorphus* шляхом внесення у середовища індукторів каротиногенезу або комплексного препарату органічного походження. Розроблені схеми кокультивування мікроводоростей як кормового субстрату та культур зоопланктону (*Moina macroscopa* (Straus, 1820), *Simocephalus vetulus* (Müller, 1776) та *Daphnia magna* (Straus, 1820)). Розроблено математичну модель та комп'ютерну програму біотехнологічного процесу накопичення каротиноїдів у досліджуваних культурах.

**Практичне значення одержаних результатів.** Результати здійснених досліджень можна застосовувати при виготовленні живих кормів чи кормових добавок на основі зелених водоростей в аквакультурі. Отримана каротиновмісна біомаса може бути використана для підвищення імунітету та покращення росту аквакультурних організмів. Розроблена математична модель та програмний продукт можуть стати основою для прогнозування продуктивності мікроводоростей та оптимізації біотехнологічних процесів у промисловому виробництві кормів. Матеріали дисертаційних досліджень також можуть бути використані при плануванні науково-дослідних робіт зі спеціальності «Біотехнологія та біоінженерія».

**Особистий внесок здобувача.** Дисертантка самостійно підбрала та опрацювала літературні джерела; самостійно виконала експериментальну частину роботи та статистичну обробку отриманих даних. Результати дослідження інтерпретовано спільно з к.б.н., доцентом Чебан Л.М. Підготовка фактичного матеріалу до друку проведена разом зі співавторами. Аналіз та обговорення матеріалу, викладеного в дисертаційній роботі, проведено спільно з науковим керівником д.б.н., професором Марченком М.М., розробку математичної моделі проведено спільно з д.ф.-м.н., професором Черевком І.М.

**Апробація результатів дисертації.** Результати досліджень були представлені на 14th International Conference on Advanced Computer Information Technologies (ACIT) (Czech Republic, 2024), на 10-й Міжнародній науковій конференції «Сучасні проблеми математичного моделювання, прогнозування та оптимізації» пам'яті почесного професора Кам'янець-Подільського

національного університету імені Івана Огієнка, (Кам'янець-Подільський, 2024), на XV Всеукраїнській науково-практичній конференції «Біотехнологія XXI століття» (Київ, 2021), на Міжнародній науково-практичній конференції «Екологічні проблеми навколишнього середовища та раціонального природокористування в контексті сталого розвитку» (Херсон, 2018), I Міжнародній науково-практичній конференції «Сучасні проблеми раціонального використання водних біоресурсів» (Київ, 2018), Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю, присвяченій 20-річчю заснування наукового фахового видання України «Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка. Серія Біологія» (Тернопіль, 2017), на конференції-конкурсі молодих учених «Актуальні проблеми біохімії та біотехнології – 2016» (Київ, 2016), на V Всеукраїнській науково-практичній конференції студентів, аспірантів та молодих учених (Київ, 2016), IX Всеукраїнській науково-практичній конференції, присвяченій 170 річниці від дня народження Іллі Мечникова (Київ, 2015), IV Всеукраїнській науково-практичній конференції студентів, аспірантів та молодих учених (Київ, 2015) «Біотехнологія: звершення та надії».

**Публікації.** За результатами досліджень опубліковано 9 статей у наукових фахових виданнях, з них 4 статті у виданнях, включених до міжнародних науково-метричних баз (2 – Scopus, 2 – Web of Science), 5 – у фахових виданнях України (категорія Б), 2 патенти на корисну модель, 10 тез доповідей у збірниках матеріалів міжнародних та всеукраїнських конференцій.

**Структура та обсяг дисертації.** Дисертаційна робота включає вступ, чотири розділи, узагальнення, висновки, список використаних джерел літератури та 6 додатків. Дисертацію викладено на 176 сторінках друкованого тексту та проілюстровано 31 рисунком та 9 таблицями. Список опрацьованої літератури включає 251 джерело.

## ОСНОВНИЙ ЗМІСТ РОБОТИ МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

**Матеріалом для досліджень** слугували альгологічно чисті культури зелених мікроводоростей *Desmodesmus armatus* (Chod.) Hegew. (IBASU-A), *Acutodesmus dimorphus* (Turpin) Tsarenko (IBASU-A). Вихідні культури водоростей отримані із колекції Інституту ботаніки імені М.Г. Холодного НАН України. Надалі культури водоростей підтримувалися в колекції кафедри біохімії та біотехнології ЧНУ імені Юрія Федьковича.

**Умови культивування.** Досліджувані культури *D. armatus* та *A. dimorphus* вирощували на середовищі Фітцджеральда № 11 у модифікації Цендера і Горхема. Всі роботи з висіву культури, виконувались в умовах ламінар-боксу.

Культивування здійснювали в кліматичній кімнаті при температурі  $21 \pm 2^\circ\text{C}$ , освітленні люмінесцентними лампами з інтенсивністю 2500–4000 лк, та 16-годинному фотоперіоді, у колби Ерленмейера об'ємом 500 мл.

Підготовку скидної води з рибоводної установки замкнутого водопостачання (механічний фільтр) здійснювали шляхом вилучення аліквот, які переносили в термостійкі ємкості з притертими корками. Ці проби автоклавували при  $121 \pm 2^\circ\text{C}$  протягом  $30 \pm 5$  хв у паровому стерилізаторі. Після охолодження до кімнатної температури у ламінар-боксі висівали культури фітопланктону у співвідношенні інокулят : живильне середовище 1:10. Підготовлені ємності переносили в кліматичну кімнату для нарощування біомаси. Як контрольне середовище використовували середовище Фітцджеральда № 11 у модифікації Цендера і Горхема (Маліщук та ін., 2015; Марченко та ін., 2015; Чебан та ін., 2015).

Для дослідження впливу органічної компоненти на продуктивність культур зелених водоростей використовували комплексний препарат під торговою назвою DON-1R. У дослідженнях використовували наступні концентрації препарату:  $2,1 \cdot 10^{-3}$ ,  $4,2 \cdot 10^{-3}$ ,  $6,3 \cdot 10^{-3}$ ,  $8,4 \cdot 10^{-3}$  мкг  $\cdot$  л<sup>-1</sup>, які вносили у ємкості зі скидною водою об'ємом 500 мл, висівали культури фітопланктону у співвідношенні інокулят : живильне середовище 1:10 та поміщали в культивацийну кімнату.

**Вивчення впливу індукторів каротиногенезу** здійснювали під час другої фази культивування. Перша фаза накопичувального культивування тривала 16 діб до досягнення оптимальної щільності культур ( $5 \cdot 10^6$  кл/л). Біомаса першої фази використовувалася як джерело інокуляту, який додавали в середовище другої фази у співвідношенні 1:10. У кожне із середовищ вносили відповідний індуктор каротиногенезу:  $\text{FeSO}_4$  (0,11, 0,22, 0,45мМ) з  $\text{H}_2\text{O}_2$  ( $10^{-4}$ мМ),  $\text{NaCl}$  (50, 100, 200мМ),  $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$  чи  $\text{CH}_3\text{COONa}$  (10, 25, 50мМ).

**Методи дослідження альгокультур.** Ріст альгокультур оцінювали спектрофотометрично, визначаючи густину культури за оптичним показником при 750 нм за допомогою CaryWin UV 60 (Agilent, США). Морфологічні характеристики досліджували мікроскопічно, використовуючи камеру Горяєва, тринокулярний мікроскоп MicroMed-3300 ( $\times 1000$ ) (Україна) та програмне забезпечення Micam 2.0. Фізіологічний стан клітин оцінювали за допомогою цитохромоксидазного тесту (Ткаченко та ін., 2016).

Ліпіди екстрагували згідно методики Фолча (Folch, 1957). Вміст загального білка визначали за Лоурі (Lowry et al., 1951). Для дослідження вмісту вуглеводів застосовували кольорову реакцію з антроновим реактивом (Roe, 1955).

Визначення вмісту загальних каротиноїдів в ацетонових екстрактах визначали спектрофотометрично в діапазоні довжин хвиль 400 – 800 нм.

Для визначення фракційного складу каротиноїдів застосовували метод хроматографії в тонкому шарі сорбенту (ТШХ) на пластинках «Silufol – UV-254» (Чехія) висхідним способом в системі розчинників гексан : ацетон (9:1) відповідно до вимог Державної фармакопеї України.

Виділення індивідуальних каротиноїдів проводили шляхом препаративної ТШХ. Зони, що відповідають індивідуальним сполукам, знімали з носія та елюювали петролейним ефіром (каротини) та етанолом (ксантофіли). Чистоту отриманих фракцій та їхню кількість перевіряли спектрофотометрично за допомогою програмного забезпечення CaryWin UV.

Амінокислоти визначали методом іонообмінної рідинно-колонної хроматографії на автоматичному аналізаторі амінокислот Т339 (Прага, Чехія) в Інституті біохімії імені О.В. Палладіна НАН України. У зразках було отримано сукупне значення вмісту амінокислот Asn і Asp та Gln і Glu відповідно. Вміст амінокислоти Trp у зразках визначеним не був.

Визначення каталазної, пероксидазної та нітратредуктазної активності проводили спектрофотометрично (Chance et al., 1955). Активність нітратредуктази виражали у нмоль  $\text{NO}_2^- \text{ г}^{-1}$  сирої маси/год (Curtis et al., 1985; Tischner, 1976). Визначення сукцинатдегідрогеназної активності здійснювали за реакцією окислення сукцинату до фумарату за участю фероціаніду калію та вимірювали спектрофотометрично при довжині хвилі 420 нм (Hollywood et al., 2010). Визначення глутамінсинтазної активності проводили за збільшенням вмісту глутаміну, заміри проводились при довжині хвилі 700 нм (Rees et al., 1995). Визначення глутаматдегідрогеназної активності проводили спектрофотометрично за швидкістю окислення НАДН або НАДФН у реакційній суміші (Miflin et al., 2002). Визначення цитохромоксидазної активності проводили за методом Novikoff и Goldfischer (Novikoff et al., 1969).

**Методи дослідження зоопланктону.** Матеріалом дослідження слугували чисті культури гіллястовусих ракоподібних *Moina macroscopa* (Straus, 1820), *Simocephalus vetulus* (Müller, 1776) та *Daphnia magna* (Straus, 1820), з колекції Інституту біології, хімії та біоресурсів Чернівецького національного університету імені Юрія Федьковича.

Початкову кількість особин (50 особин/л) поміщали в ємкості об'ємом 0,5 л з скидною водою із УЗВ. Культивування здійснювали в умовах кліматичної кімнати. Контрольні проби містили культури ракоподібних *S. vetulus*, *M. macroscopa* та *D. magna*, які культивували на скидній воді з додаванням водної суспензії дріжджів. Дріжджі вносили через 24 год (Harris et al., 2000).

Підрахунок особин зоопланктону здійснювали за методом аліквот при використанні камери Богорова під тринокулярним мікроскопом MicroMed XS-3300.

У систему спільного культивування вводили 50 мл культури



мікрводоростей, відібраної в експоненціальну фазу росту (коли досягнуто кількості клітин  $\sim 3$  млн кл/л). Сюди ж вносили організми *Daphnia magna*, *Moina macroscopa* чи *Semosephalus vetulus* (у розрахунку 25 екз. на 500 мл культурного середовища) відразу ж в той же день, через три або шість днів після внесення водоростей.

Також було здійснено культивування досліджуваних представників зоопланктону окремо від водоростей, із внесенням раз на дві доби дріжджів, *S. cerevisiae*, у тій же концентрації. Відбір проб для біохімічного аналізу здійснювали у фазі максимальної продуктивності.

На наступному етапі при вивченні біохімічного складу біомаси досліджуваних представників зоопланктону паралельно до попередніх трьох схем іще культивували зоопланктон окремо від водоростей і підгодовували 1 раз на добу досліджуваною культурою водоростей (по 5 мл) (Hu et al., 2019).

Залежність трофічної активності зоопланктону від щільності посадки визначали за показником зниження концентрації корму (біомаси водоростей) у середовищі спільного культивування. Зменшення кількості клітин водоростей в експерименті визначали шляхом підрахунку на камері Горяєва у трикратному повторі.

**Оцінка продуктивності зоопланктону при використанні біомаси водоростей як кормових організмів.** Ліпіди екстрагували згідно методики Фолча (Folch, 1957). Вміст загального білка визначали за Лоурі (Lowry et al., 1951). Визначення вмісту каротиноїдів у складі зоопланктону проводили спектрофотометрично при визначенні масової частки каротиноїдів у пробах, попередньо екстрагованих розчинами Карез I та Карез II з наступним очищенням петролейним ефіром на спектрофотометрі CaryWinUV 60 (Agilent, США) в діапазоні довжин хвиль 400–800 нм.

Розділення суміші каротиноїдів на окремі фракції проводили з використанням методу тонкошарової препаративної хроматографії. При цьому було апробовано наступні розчинники: гексан-ацетон (7:3), гексан-бензол (7:3).

Визначення вмісту окремих фракцій каротиноїдів в ацетонових екстрактах визначали спектрофотометрично в діапазоні довжин хвиль 400–800 нм, відповідно до літературних даних. Отримані показники перераховували на абсолютну суху масу.

**Розробка математичної моделі та програмного продукту.** Розв'язання математичної моделі було здійснено в середовищі Wolfram Mathematica. Для моделювання та аналізу системи диференціальних рівнянь з параметрами використовували функції ParametricNDSolveValue, TableForm та TableHeadings. Крім цього, був написаний програмний код мовою програмування Python. При цьому було застосовано бібліотеку tkinter з метою створення графічного інтерфейсу користувача. Бібліотека NumPy використовується для зручної обробки масивів даних та проведення математичних операцій. Бібліотека SciPy включає в себе функцію solve\_ivp, яка використовується для чисельного розв'язання системи диференціальних рівнянь. Matplotlib використовується для створення графіків та візуалізації результатів наукового дослідження.

**Статистична обробка результатів.** Для статистичного аналізу отриманих

даних використовували за загальноприйнятими методиками (програмне забезпечення Microsoft Excel та метод однофакторного дисперсійного аналізу ANOVA з тестом Tukey HSD в пакеті STATISTIKA 6.0). Вірогідність відмінностей між результатами оцінювали при рівні значимості  $p \leq 0,05$  за критерієм Ст'юдента.

## РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

**Розробка технологій культивування водоростей та їх застосування як субстрату для зоопланктону.** З метою збільшення кормової бази для нижчих ракоподібних і личинок риб було проведено попередній відбір перспективних видів фітопланктону річки Дністер. Дослідження показали, що зелені мікроводорості, зокрема представники протококових, є однією з основних груп альгофлори у вивчених ділянках річки.

На основі отриманих результатів зроблено висновок, що саме ці мікроводорості формують значну частину кормової бази водойми.

Для зменшення витрат на технологію вирощування мікроводоростей *D. armatus* та *A. dimorphus* було використано скидну воду з установки замкнутого водопостачання (УЗВ) як живильне середовище. Стічні води рециркуляційних систем багаті на неорганічні і органічні речовини, які потрапляють сюди з кормами, в результаті життєдіяльності риб.

За результатами наших досліджень, скидна вода з УЗВ збагачена різними формами азоту ( $\text{NH}_4^+$ ,  $\text{NO}_2^-$ ,  $\text{NO}_3^-$ ), містить широкий спектр мінеральних елементів, кількість яких подекуди є вищою ніж у класичних середовищах (табл. 1). Це, в свою чергу, дозволяє передбачити позитивний вплив такого культивувального середовища на приріст біомаси мікроводоростей.

Рівень біомаси культур мікроводоростей на скидній воді з УЗВ і контрольному середовищі змінювався залежно від тривалості культивування, досягаючи максимального значення на 40-й день. Дослідження показали, що клітинна маса протококових водоростей, вирощених на скидній воді з УЗВ, містить достатню кількість основних поживних речовин, що робить їх придатними для використання як кормового об'єкта. Встановлено, що скидну воду з УЗВ можна ефективно використовувати для культивування фітопланктону без зниження продуктивності культур гідробіонтів та їхньої харчової цінності.

Для підвищення продуктивності культур застосували комплексний препарат на основі органічних сполук. Було досліджено його ефективність у чотирьох різних концентраціях. У культурах *D. armatus* та *A. dimorphus* на всіх етапах експерименту біомаса була більшою, ніж у контрольних зразках, незалежно від концентрації препарату.

З'ясувалося, що комплекс органічних кислот, що входить до складу препарату, є додатковим джерелом субстратів для активного синтезу жирних кислот і постачає клітини енергією. Додавання препарату в концентрації  $8,4 \cdot 10^{-1}$  мкл/л стимулює метаболізм водоростей у напрямку синтезу амінокислот і ліпідів, не викликаючи стресу клітин, що підтверджується низькою активністю ферментів стресової відповіді. Однак підвищення рівня каротиноїдів не спостерігалось, що свідчить про необхідність додаткових досліджень із

застосуванням індукторів каротиногенезу.

Таблиця 1

Фізико-хімічні показники культивацийних середовищ

| Характеристика культивацийних середовищ | Скидна вода із УЗВ | Середовище Фітцджеральда |
|---|--------------------|--------------------------|
| NO <sub>3</sub> <sup>-</sup> , мг/л     | 20,2±0,20          | 81,7±0,2                 |
| NO <sub>2</sub> <sup>-</sup> , мг/л     | 0,62±0,03          | -                        |
| NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> , мг/л     | 0,48±0,02          | -                        |
| PO <sub>4</sub> <sup>3-</sup> , мг/л    | 0,031±0,001        | 0,040±0,002              |
| SO <sub>4</sub> <sup>2-</sup> , мг/л    | 0,094±0,002        | 0,031±0,001              |
| CO <sub>3</sub> <sup>2-</sup> , мг/л    | 0,011±0,0005       | 0,012±0,0003             |
| Cl <sup>-</sup> , мг/л                  | 0,064±0,03         | 0,011±0,0002             |
| Fe <sup>2+</sup> , мг/л                 | 0,52±0,02          | 0,003±0,0001             |
| pH                                      | 7,0-8,0            | 7,0-8,0                  |
| Провідність, μS/cm <sup>3</sup>         | 555,0-693,0        | 452,0-690,0              |
| Загальна мінералізація, мг/л            | 371,0-477,0        | 232,0-547,0              |
| Редокс потенціал, mV                    | 211,4-213,9        | 176,9-245,0              |
| O <sub>2</sub> , мг О/л                 | 7,5-7,8            | 6,5-7,5                  |

Для оптимізації процесу індукції вторинного каротиногенезу на скидній воді з УЗВ була розроблена і адаптована двофазна схема накопичувального культивування (рис.1). На першій фазі інокулят вихідної культури було внесено в свіже живильне середовище, яким слугувала скидна вода з УЗВ. Це забезпечило активне зростання культур із високим вмістом загальних білків, ліпідів та каротиноїдів.



Рис.1. Схема двостадійного накопичувального культивування культур

До завершення першої фази спостерігалось значне збільшення біомаси: для *D. armatus* – до 13 г/л, а для *A. dimorphus* – до 12,5 г/л.

У біомасі *D. armatus* було ідентифіковано 8 фракцій каротиноїдів, серед яких виявлено первинні каротини, такі як зеаксантин, лютеїн і β-каротин. Також

зафіксовано невелику кількість астаксантину, кантаксантину та ефірів адоніксантину й астаксантину (рис. 2).

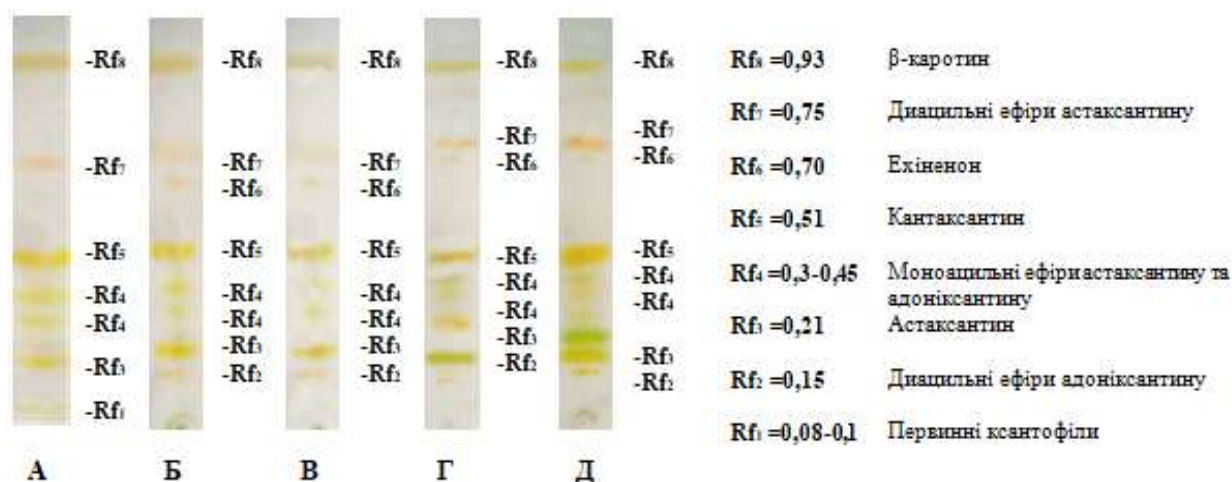


Рис. 2. Фракційний склад каротиноїдів *D. armatus* на I (А) та на II фазах культивування за умов внесення  $\text{CH}_3\text{COONa}$  (Б),  $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$  (В),  $\text{NaCl}$  (Г),  $\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$  (Д).

Подібний склад каротиноїдів спостерігався й у біомасі *A. dimorphus* (рис.3).

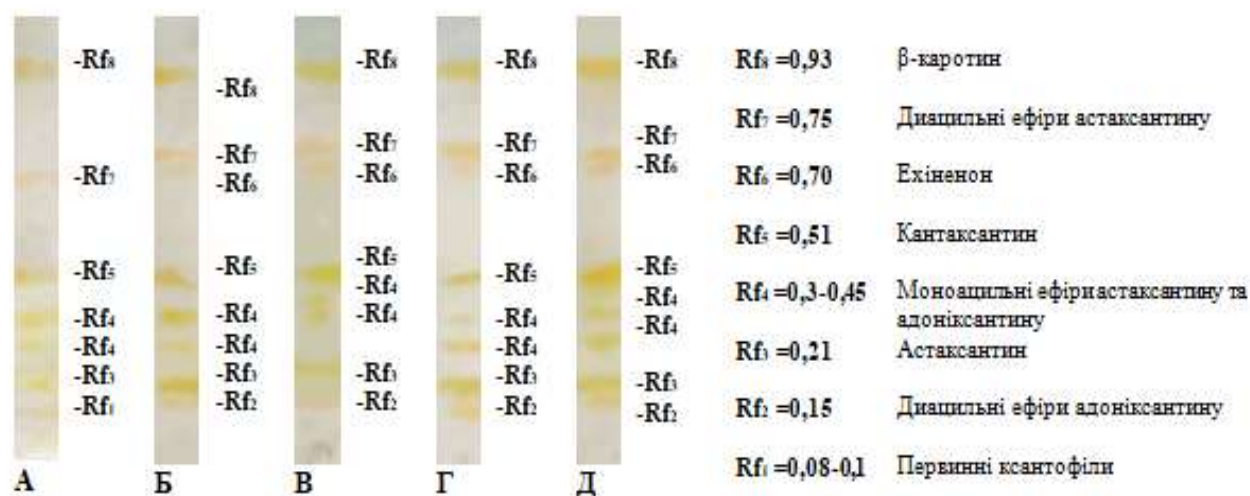


Рис. 3. Фракційний склад каротиноїдів *A. dimorphus* на I (А) та на II фазах культивування за умов внесення  $\text{CH}_3\text{COONa}$  (Б),  $\text{C}_6\text{H}_{12}\text{O}_6$  (В),  $\text{NaCl}$  (Г),  $\text{Fe}^{2+}/\text{H}_2\text{O}_2$  (Д)

Перехід культур до другої фази стимулювали шляхом внесення до живильного середовища попередників біосинтезу каротиноїдів (глюкози та ацетату натрію), промоторів вільнорадикального окиснення ( $\text{FeSO}_4/\text{H}_2\text{O}_2$ ) або речовин, що викликають осмотичний стрес ( $\text{NaCl}$ ). Під час експерименту контролювали фізіологічний стан і росту активність культур. Додавання  $\text{FeSO}_4/\text{H}_2\text{O}_2$  та  $\text{NaCl}$  викликало пригнічення ростової активності обох культур.

Зміна складу живильного середовища впливала на якісний і кількісний склад каротиноїдів. Відзначалося зниження рівня первинних каротиноїдів та збільшення частки вторинних. Використання промоторів вільно-радикального

окиснення ( $\text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2$ ) і осмотичного стресу ( $\text{NaCl}$ ) сприяло зростанню вмісту  $\beta$ -каротину та астаксантину. Наприклад, при застосуванні  $\text{NaCl}$  і  $\text{FeSO}_4/\text{H}_2\text{O}_2$  кількість  $\beta$ -каротину збільшувалася разом із рівнем вторинних каротиноїдів. Накопичення біомаси в процесі каротиногенезу відбувалося переважно за рахунок підвищення вмісту ліпідів. Попри активізацію каротиногенезу, спостерігався перерозподіл основних нутрієнтів і накопичення ліпідів, що не впливало на кормову цінність біомаси *A. dimorphus* (рис.4). Схожий розподіл був характерний також для культури *D. armatus*.

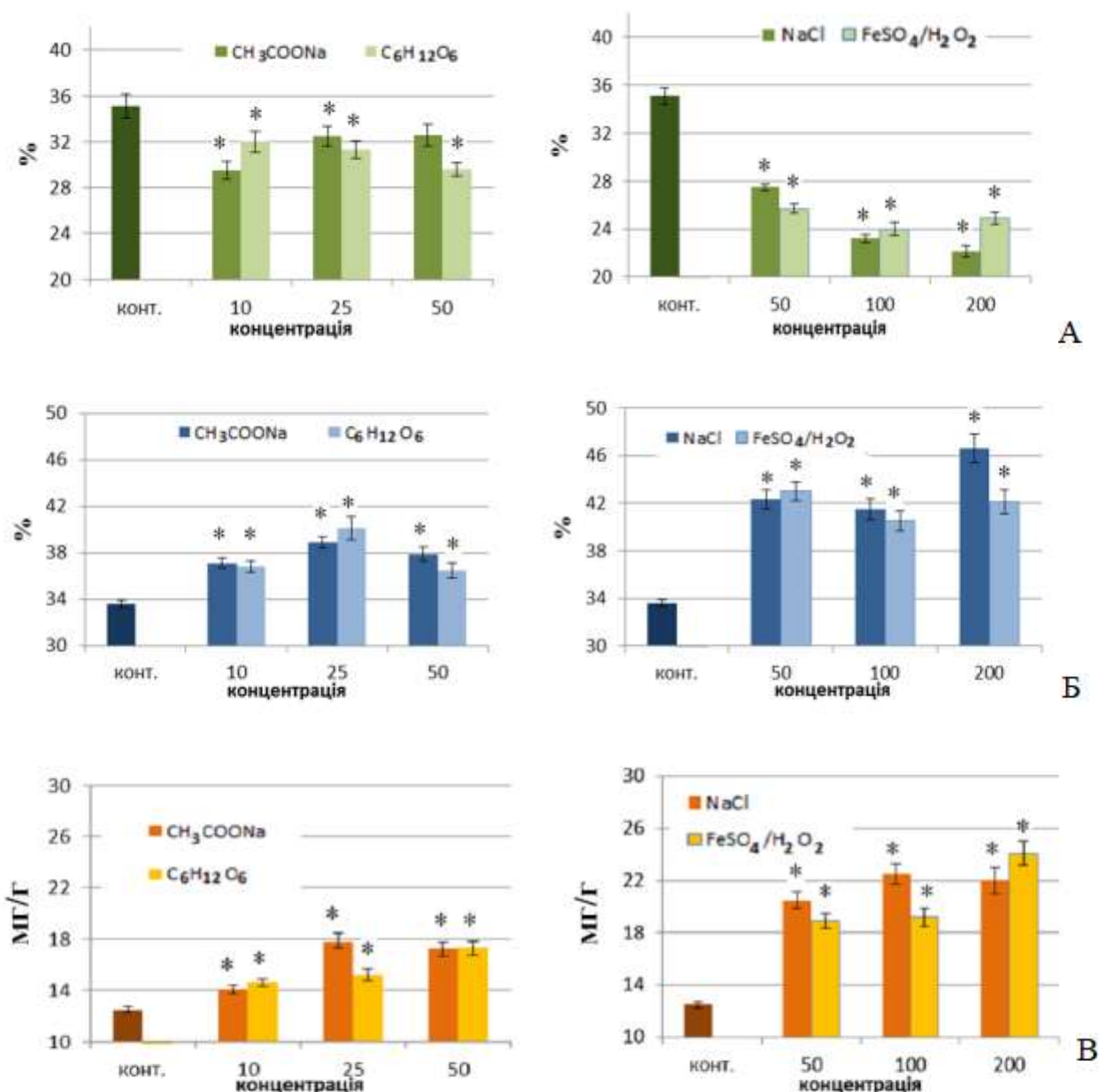


Рис. 4. Кількість загального білка (А), ліпідів (Б), каротиноїдів (В) *A. dimorphus* на кінець II фази культивування за дії індукторів каротиногенезу.

Примітка: \* - відмінності, у порівнянні з контрольною групою, статистично вірогідні при  $p \leq 0,05$ .

Водночас додавання індукторів каротиногенезу призводило до морфологічних змін, зниження ростової активності культур і зменшення

цитохромоксидазної активності, що слугувало показником загальної метаболічної активності. Крім того, за таких умов активізувалися антиоксидантні системи, супроводжуючи посилений каротиногенез.

Отже, було підтверджено можливість підвищення вмісту цінних для аквакультури риб і ракоподібних компонентів, таких як  $\beta$ -каротин та астаксантин, у біомасі мікроводоростей *A. dimorphus* та *D. armatus*. Для цього на другій фазі культивування до скидної води з УЗВ додавали промотори вільнорадикального окислення та осмотичного стресу: NaCl (200 мМ) або  $\text{Fe}^{2+}$  (200 мМ) з  $\text{H}_2\text{O}_2$  ( $10^{-4}$  мМ).

**Використання мікроводоростей як кормового субстрату для зоопланктону.** Було вивчено вплив протококових мікроводоростей як харчового субстрату на ріст популяцій *Daphnia magna*, *Semiocephalus vetulus* та *Moina macroscopa* в лабораторних умовах. Метою дослідження було отримання даних для визначення оптимальних технологічних параметрів виробництва живих кормів на основі цих організмів.

Для дослідів було створено наступні експериментальні схеми:

- одночасне введення зоопланктону та фітопланктону;
- введення зоопланктону через три дні після фітопланктону;
- введення зоопланктону через шість днів після фітопланктону;
- порційне внесення мікроводоростей у систему вирощування зоопланктону.

У всіх експериментах біомаса зоопланктону, який отримував у якості корму як контроль дріжджі, мала найнижчий вміст загального білка (47–49%) та високі показники вмісту ліпідів. Натомість найвищі показники загального білка спостерігалися в схемах одночасного заселення фіто- і зоопланктону. Рівень каротиноїдів у зоопланктоні був найвищим при годуванні фітопланктоном.

Дослідження також показало, що кількість спожитих зоопланктоном клітин водоростей зростає пропорційно до концентрації зоопланктону в середовищі. У схемах одночасного заселення фіто- і зоопланктону концентрація клітин водоростей залишалася низькою через активне споживання, що, своєю чергою, стимулювало прискорення швидкості поїдання. При низькій щільності зоопланктону (25 особин на 500 мл) у середовищі де активно розмножуються мікроводорості швидкість споживання залишалася дуже низькою.

На наступному етапі дослідження ми використали збагачену каротиноїдами біомасу мікроводоростей *D. armatus* і *A. dimorphus* у кокультуванні із зоопланктоном. Показано, що найбільш ефективними є схеми внесення культур *D. armatus* та *A. dimorphus*, попередньо культивованих на скидній воді із УЗВ із додаванням промоторів вільнорадикального окислення, у середовище вирощування зоопланктону.

Схема передбачає внесення 5 мл оводненої біомаси культур мікроводоростей, отриманих у фазу максимальної продуктивності на 500 мл культурального середовища зоопланктону 1 раз на добу. Оптимальний термін культивування 15 діб. Застосування такої схеми дозволило отримати збагачені каротиноїдами культури *S. vetulus*, *D. magna*, *M. macroscopa* (рис. 5).



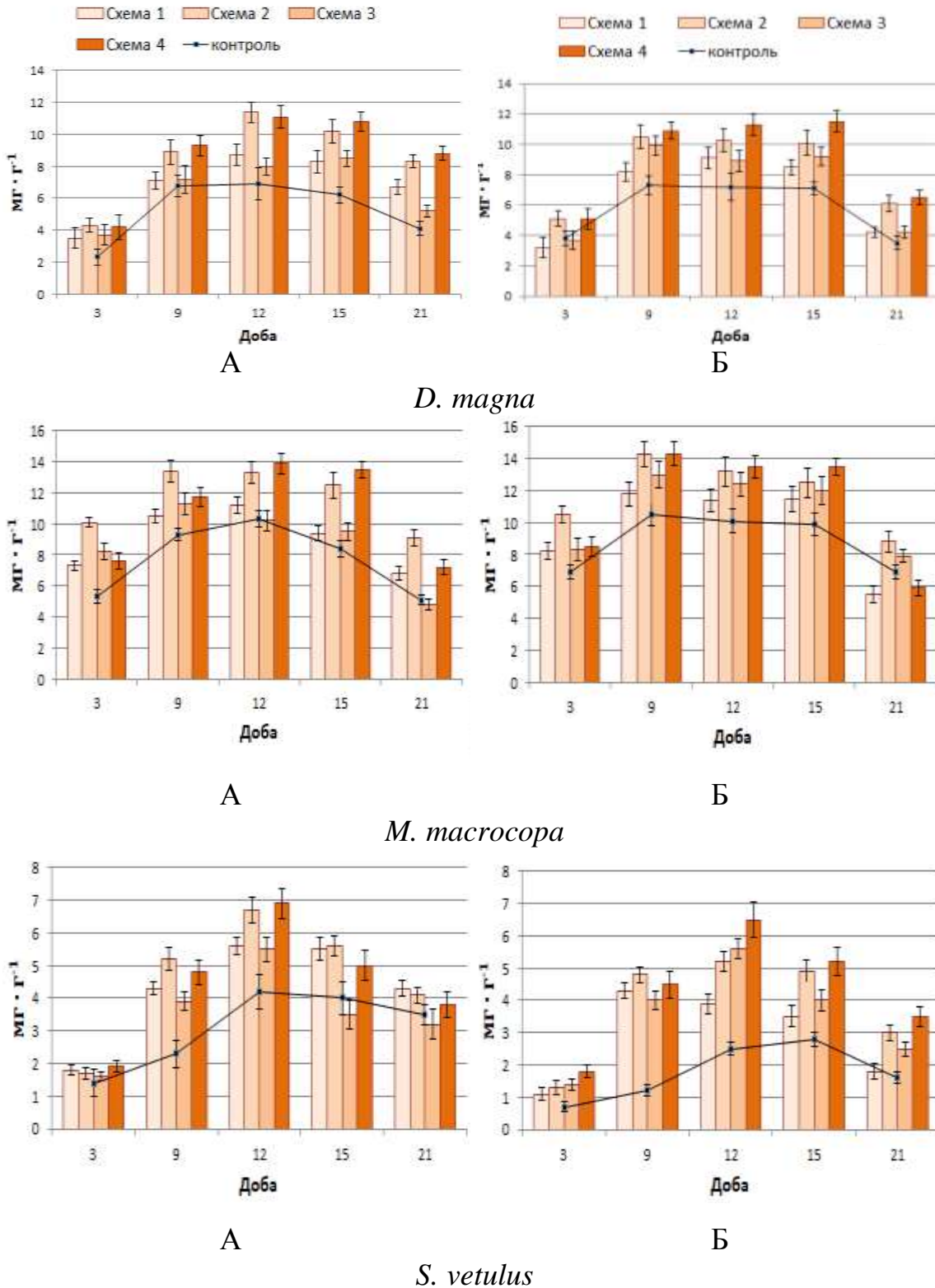


Рис. 5. Вміст загальних каротиноїдів у культурах зоопланкtonу *D. magna*, *M. macroscopa*, *S. vetulus* за використання різних схем сумісного культивування із *D. armatus* (А) та *A. dimorphus* (Б)

Біомаса *D. magna* включала до свого складу 7 фракцій каротиноїдів:  $\beta$ -каротин, астаксантин, адоніксантин та їхні ефіри, кантаксантин, ехіненон, зеаксантин та лютеїн. При культивуванні *Moina macroscopa* з *D. armatus*

відмічено збільшення кількості  $\beta$ -каротину, астаксантину, адоніксантину. У той же час, жодна з описаних схем не призвела до збільшення вмісту ехіненону, зеаксантину та лютеїну в культурах *D. magna*, *M. macroscopa* та *S. vetulus*.

Завдяки застосованим підходам вдалося отримати культури з підвищеним вмістом каротиноїдів, при цьому перерозподіл нутрієнтів не вплинув негативно на поживну цінність корму.

**Комп'ютерне і математичне моделювання біопродуктивності мікроводоростей *D. armatus* та *A. dimorphus*.** Оскільки експериментальні дослідження динаміки культивування мікроводоростей є тривалими та ресурсоемними, доцільно створити математичну модель, яка зможе точно описувати процес накопичення біомаси, синтез цільових продуктів і витрати субстрату під час культивування.

Математична модель біотехнологічного процесу синтезу каротиноїдів і біомаси у культурах *D. armatus* і *A. dimorphus* при додаванні стимулюючих субстратів до середовища базується на системі диференціальних рівнянь:

$$\begin{aligned}\frac{dC}{dt} &= \frac{\mu_m K_{CS}}{K_S + K_{CS}} C - \bar{\mu}C. \\ \frac{dP}{dt} &= \frac{q_1 S}{K_S + S} C - kPC. \\ -\frac{dS}{dt} &= \left(\frac{\mu_m}{Y_{CS}} + \frac{q_p}{Y_{PS}}\right)C.\end{aligned}\quad (1)$$

Розв'язання цієї системи диференціальних рівнянь дозволяє відстежувати динаміку зміни всіх ключових параметрів біотехнологічного процесу в часі.

У разі застосування інгібуючого субстрату NaCl, який не виконує функції енергетичного джерела, коефіцієнти в третьому рівнянні дорівнюють нулю. Крім того, враховано, що індуктор не витрачається в процесі культивування, хоча його присутність значно впливає на зміни кількісних характеристик основних показників продуктивності. Таким чином, математична модель для цього типу субстрату набуває наступного вигляду:

$$\begin{aligned}\frac{dC}{dt} &= \frac{\mu_m K_{CS}}{K_S + K_{CS}} C - \bar{\mu}C. \\ \frac{dP}{dt} &= \frac{q_1 S}{K_S + S} C - kPC. \\ -\frac{dS}{dt} &= 0.\end{aligned}\quad (2)$$

Таким чином, математичні моделі біотехнологічних процесів синтезу каротиноїдів і біомаси в культурах *D. armatus* та *A. dimorphus*, побудовані на основі диференціальних рівнянь, дають змогу прогнозувати динаміку основних параметрів процесу. Це дозволяє налаштувати умови для досягнення оптимальних показників кінцевого продукту.

У цій роботі проведено комп'ютерне моделювання процесів накопичення



каротиноїдів і біомаси, представлено у вигляді системи диференціальних рівнянь з параметрами, отриманими з експериментальних даних. Розрахунки виконувалися в середовищі Wolfram Mathematica (рис. 6), а також за допомогою спеціалізованої програми, створеної мовою Python (рис.7).

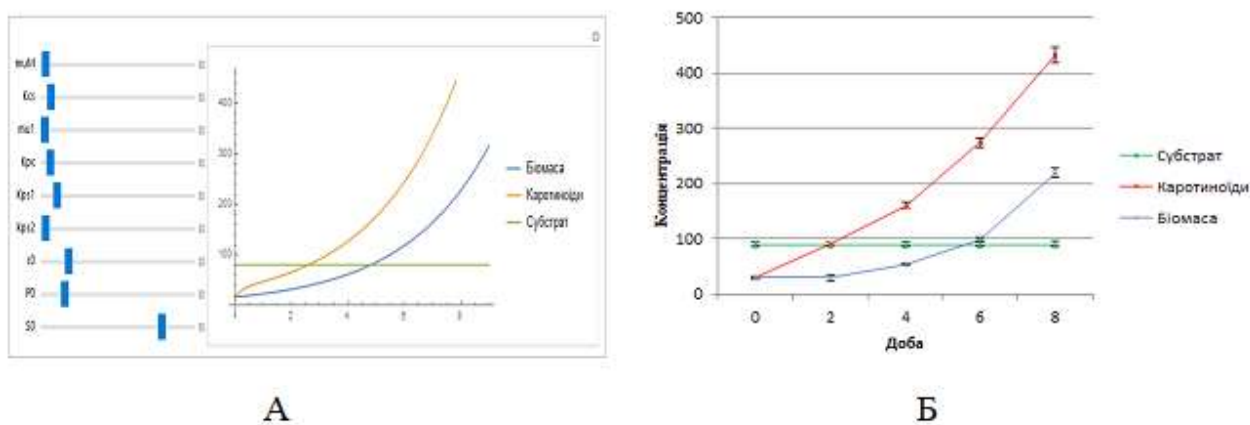


Рис. 6. Графік поведінки системи при використанні інгібуючого субстрату (візуалізація роботи програми (А) і експериментальних даних (Б) для культури *D. armatus*)

Результати моделювання показали високу відповідність експериментальним даним щодо динаміки накопичення каротиноїдів і біомаси в культурах *D. armatus* та *A. dimorphus*.

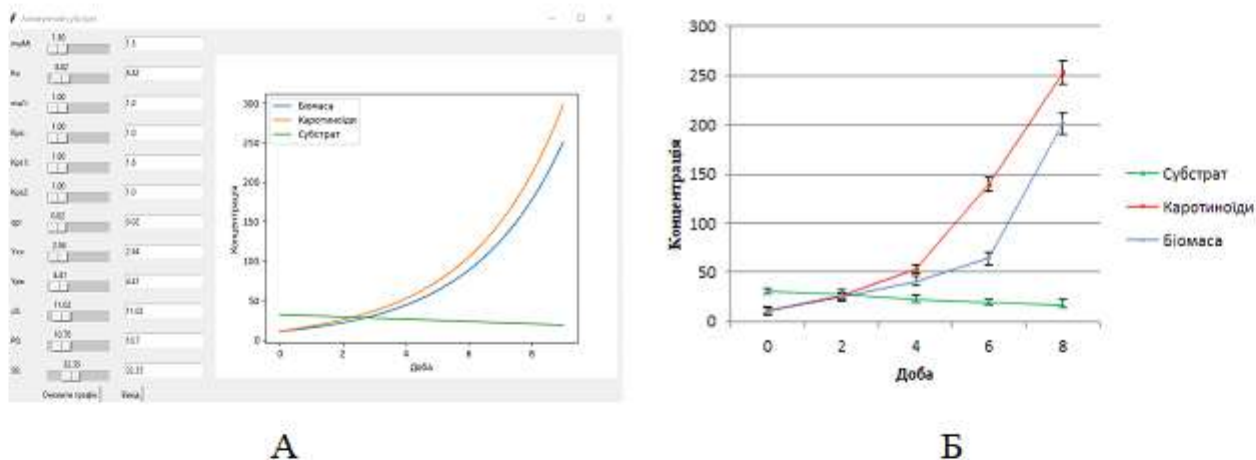


Рис 7. Візуалізація математичної моделі у програмі при дії стимулюючого субстрату (А) та експериментальних даних (Б) для культури *A. dimorphus*

Розроблена програма містить інтерактивні інструменти, які дозволяють користувачу змінювати параметри моделі. Завдяки інтегрованим слайдерам можна легко регулювати значення параметрів і спостерігати їхній вплив на результати моделювання.

Ця програма є цінним інструментом для дослідників, фахівців у сфері риборозведення та біотехнології, оскільки сприяє глибшому розумінню біологічних процесів і їх оптимізації.

## ВИСНОВКИ

Розроблено принципи та підходи отримання каротиновмісної біомаси зелених водоростей *Desmodesmus armatus* та *Acutodesmus dimorphus* на скидній воді з УЗВ. Підібрано методи індукції каротиногенезу шляхом введення у живильне середовище під час другої фази культивування на скидній воді з УЗВ промоторів вільнорадикального окислення ( $\text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2$ ) та осморегуляторів ( $\text{NaCl}$ ). Запропоновано ефективну схему отримання зоопланктону із високою поживною цінністю: порційне внесення культури мікрowodоростей, попередньо збагаченої каротиноїдами шляхом індукції  $\text{Fe}^{2+}$  (200 мМ) з  $\text{H}_2\text{O}_2$  ( $10^{-4}$  мМ). Розроблено математичні моделі процесу накопичення каротиноїдів для випадків активуючого та інгібуючого субстратів. Створено спеціалізовані прикладні програми у середовищі Wolfram Mathematica та мовою програмування Python для прогнозування динаміки накопичення біомаси і витрат субстрату.

1. Доведено можливість використання скидної води з УЗВ як живильне середовище для культивування мікрowodоростей *D. armatus* та *A. dimorphus* зі збереженням продуктивності досліджуваних культур. Рекомендована схема передбачає: забір аліквот із механічного фільтра, автоклавування при  $121^\circ\text{C}$  протягом 30 хвилин. Культивування слід проводити в 500 мл колбах Ерленмейєра за температури  $21 \pm 2^\circ\text{C}$ , освітлюванні люмінесцентними лампами з яскравістю 2500 люкс протягом 16-годинного фотоперіоду.

2. Показано, що оптимальним для культур *D. armatus* та *A. dimorphus* є культивування на скидній воді із УЗВ тривалістю 40 діб. При цьому вміст білків знаходиться в межах 55-60%, ліпідів - 14,1 – 15,6%, вуглеводів - 10,9 – 11,7%, каротиноїдів - 13–14 мг/г сухої маси. В біомасах обох досліджуваних культур виявлено всі протеїногенні амінокислоти. Вміст аспартату та глутамату був домінуючим у культурі *D. armatus* і складав 0,322 та 0,350 мг•г<sup>-1</sup> сухої маси. Для культури *A. dimorphus* домінуючими були аланін та глутамінова кислота 0,203 та 0,327 мг•г<sup>-1</sup> сухої маси відповідно.

3. Досягнуто підвищення кількості каротиноїдів до 27 мг/г у біомасі *D. armatus* та до 24 мг/г у біомасі *A. dimorphus* шляхом внесення промоторів вільнорадикального окислення ( $\text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2$ ) та осморегуляторів ( $\text{NaCl}$ ). При цьому зафіксовано збільшення вмісту  $\beta$ -каротину (до 31-35%) та вторинних каротиноїдів, зокрема ефірів астаксантину та адоніксантину.

4. При внесенні промоторів вільнорадикального окислення ( $\text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2$ ) та осморегуляторів ( $\text{NaCl}$ ) впродовж культивування кількість біомаси *D. armatus* знаходилася в межах 12-14 г/л, а в *A. dimorphus* - 9–11 г/л, що супроводжувалося збільшенням кількості загальних ліпідів (46 - 49%) на фоні зменшення кількості білка. Також відмічено зниження цитохромоксидазної активності, збільшення каталазної та пероксидазної активності майже на 50%.

5. Розроблено схему годування зоопланктону біомасою зелених водоростей після індукції каротиногенезу. Схема передбачає внесення 5 мл оводненої біомаси *D. armatus* та *A. dimorphus*, отриманих у фазу максимальної продуктивності на 500 мл культурального середовища зоопланктону 1 раз на добу. Оптимальний термін культивування 15 діб. Застосування такої схеми дозволяє отримати збагачені каротиноїдами культури *S. vetulus* до 7 мг/г, *D. magna* – 11 мг/г, *M. macroscopa* –

14 мг/г. Годування зоопланктону каротиновмісною біомасою зелених водоростей дозволило також збільшити вміст фракцій  $\beta$ -каротину, астаксантину, адоніксантину.

6. Розроблено математичні моделі балансу для опису динаміки накопичення каротиноїдів та біомаси за різнонаправленої дії субстратів. Для реалізації моделей були створені спеціалізовані прикладні програми у середовищі Wolfram Mathematica, а також за допомогою мови програмування Python, які дозволяють легко модифікувати параметри системи та спостерігати за впливом змін на поведінку культури мікрководоростей.

## СПИСОК РОБІТ, ОПУБЛІКОВАНИХ ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ

*Статті:*

1. Marchenko, M.M., **Dorosh, I.V.** & Cheban, L.M. (2019). Induction of carotenogenesis in *Desmodesmus armatus* (Chod.) Hegew cultivated on the closed waterside from recirculating aquaculture. *Biotechnologia Acta*, 12 (2), 46-55. <https://doi.org/10.15407/biotech12.02.046> (*Особистий внесок здобувача: вирощування досліджуваної культури, проведення досліджень по каротиногенезу, опрацювання та аналіз отриманих експериментальних даних*). Doi: 10.15407/biotech12.02.046 (Index Copernicus).

2. Cheban, L., Grynko, O. & **Dorosh, I.** (2018). Co-cultivation of *Daphnia magna* (Straus) and *Desmodesmus armatus* (chod.) Hegew. in recirculating aquaculture system wastewater. *Archives of Polish Fisheries*, 26, 57 – 64. <https://sciendo.com/downloadpdf/journals/aopf/26/1/article-p57.pdf> (*Особистий внесок здобувача: культивування мікрководоростей, планування схеми експерименту, опрацювання отриманих експериментальних даних*). Doi: 10.2478/aopf-2018-0007 (Scopus, **Q3**).

3. Cheban, L.M., **Dorosh, I.V.** & Marchenko, M.M. (2018). Reaction of Cells *Desmodesmus armatus* (Chod.) Hegew. on the Induction of Carotynogenesis. *International Letters of Natural Sciences*, 72, 21-27. <https://doi.org/10.56431/p-exxa5m> (*Особистий внесок здобувача: вирощування досліджуваної культури мікрководоростей, проведення досліджень по каротиногенезу, опрацювання та аналіз отриманих експериментальних даних*).

Doi: 10.56431/p-exxa5m (Web of Science).

4. Khudyi, O., Marchenko, M., Cheban, L., Khuda, L., Kushniryk, O. & **Malishchuk, I.** (2016). Recirculating aquaculture systems waste water as a medium for increase of phytoplankton and zooplankton biomass. *International Letters of Natural Sciences*, 54, 1-7. <https://doi.org/10.56431/p-w7i7rc> (*Особистий внесок здобувача: планування та проведення досліджень з фітопланктоном*). Doi: 10.56431/p-w7i7rc (Web of Science).

5. Cheban, L., **Malischuk, I.** & Marchenko, M. (2015). Cultivating *Desmodesmus armatus* (Chod.) Hegew. in recirculating aquaculture systems (RAS) waste water. *Archives of Polish Fisheries*, 23(3), 155 – 162. <https://doi.org/10.1515/aopf-2015-0018> (*Особистий внесок здобувача: планування та проведення досліджень, опрацювання та аналіз експериментальних даних, написання статті*). Doi: 10.1515/aopf-2015-0018 (Scopus, **Q3**).

6. Чебан, Л.М., **Маліщук, І.В.**, Гринько, О.Е. & Марченко, М.М. (2015). Вміст нутрієнтів у біомасі *Desmodesmus armatus* (Chod.) Hegew. та *Acutodesmus dimorphus* (Turpin) Tsarenko, культивованій на скидній воді із УЗВ. *Науковий вісник Чернівецького університету. Біологія (Біологічні системи)*, 7(2), 171–176. [http://nbuv.gov.ua/UJRN/Nvchu\\_biol\\_2015\\_7\\_2\\_7](http://nbuv.gov.ua/UJRN/Nvchu_biol_2015_7_2_7) (Особистий внесок здобувача: планування та проведення досліджень, опрацювання та аналіз експериментальних даних). (Index Copernicus).

7. **Маліщук, І.В.**, Чебан, Л.М. & Марченко, М.М. (2015). Продуктивність монокультури *Clorella vulgaris* Beijerinck, культивованої на скидній воді із установки замкнутого водопостачання. *Вісник Одеського національного університету*, 20, 1(36), 121–128. <http://visbio.onu.edu.ua/article/view/56917> (Особистий внесок здобувача: планування та проведення досліджень, опрацювання та аналіз експериментальних даних, написання статті). (Index Copernicus).

8. **Маліщук, І.В.**, Чебан, Л.М. & Марченко, М.М. (2015). Особливості культивування *Acutodesmus dimorphus* (Turpin) Tsarenko на скидній воді із рибоводної установки замкнутого водопостачання. *Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка. Серія: Біологія. Спеціальний випуск: Гідроекологія*, 3-4 (64), 428-432. <http://dspace.tnpu.edu.ua/handle/123456789/5858> (Особистий внесок здобувача: планування та проведення досліджень, опрацювання та аналіз експериментальних даних, написання статті). (Index Copernicus).

9. Чебан, Л.М., **Маліщук, І.В.**, Лисак, В.Р. & Марченко, М.М. (2014). Ефективність вирощування *Anabaena hassalii* (kutz.) Wittr. за різних умов культивування. *Науковий вісник Чернівецького університету. Біологія (Біологічні системи)*, 6 (2), 145-149. [http://ibhb.chnu.edu.ua/uploads/files/vb/BS\\_T6\\_V2\\_2014.pdf](http://ibhb.chnu.edu.ua/uploads/files/vb/BS_T6_V2_2014.pdf) (Особистий внесок здобувача: планування та проведення досліджень, опрацювання та аналіз експериментальних даних, написання статті).

#### Патенти:

1. Марченко, М. М., Чебан, Л. М., Гринько, О. Е., Худий, О. І., Кушнірик, О. В., Худа, Л. В., & **Дорош, І. В.** (2017). Спосіб вирощування *Daphnia magna* (Straus, 1820) сумісно з кормовим субстратом (мікроводоростями) (Патент України № 121772). Міністерство економічного розвитку і торгівлі України. <https://uapatents.com/patents/c12n-1-12> (Особистий внесок здобувача: проведення досліджень із фітопланктоном, опрацювання отриманих результатів).

2. Марченко, М. М., Худий, О. І., Чебан, Л. М., Худа, Л. В., & **Маліщук, І. В.** (2015). Спосіб культивування фітопланктону (Патент України № 101103). Державна служба інтелектуальної власності України. <https://ua.patents.su/7-101103-sposib-kultivuvannya-fitoplanktonu.html> (Особистий внесок здобувача: культивування фітопланктону, аналіз експериментальних даних).

#### Тези:

1. Dorosh, A., **Dorosh, I.**, Cherevko, M., Marchenko, M. & Cheban, L. (2024). Mathematical modeling of biomass and carotenoid accumulation in

microalgae. 2024 *International Conference on Advanced Computer Information Technologies (ACIT)*, 18-21 вересня 2024 р., Чехія, 36–39.

<https://doi.org/10.1109/ACIT.2024.10712487> (Scopus).

2. Дорош, А. Б., **Дорош, І. В.** & Перцов, А. С. (2024). Моделювання динаміки накопичення біомаси та каротиноїдів у мікрководоростях. (Тези доповіді). *10-а Міжнародна наукова конференція «Сучасні проблеми математичного моделювання, прогнозування та оптимізації» пам'яті почесного професора Кам'янець-Подільського національного університету імені Івана Огієнка*, 27 червня 2024 року, Кам'янець-Подільський, 84–85.

3. **Дорош, І. В.** & Чебан, Л. М. (2021). Дослідження можливості використання препарату Дон-1R для отримання кормової біомаси зелених водоростей. (Тези доповіді). *XV Всеукраїнська науково-практична конференція «Біотехнологія XXI століття»*, 23 квітня 2021 року, Київ, 36.

4. Чебан, Л. М., **Дорош, І. В.** & Ситник, М. Б. (2018). Вигодовування *Daphnia magna* (Straus, 1820) каротинвмісною біомасою *Desmodesmus* sp. (Тези доповіді). *Міжнародна науково-практична конференція «Екологічні проблеми навколишнього середовища та раціонального природокористування в контексті сталого розвитку»*, 25-26 жовтня 2018 року, Херсон, 520–524.

5. **Дорош, І. В.**, Чебан, Л. М., & Ситник, М. Б. (2018). Вплив глюкози і ацетату натрію на продуктивність та каротиногенез *Desmodesmus armatus* (Chod.) Hegew. (Тези доповіді). *I Міжнародна науково-практична конференція «Сучасні проблеми раціонального використання водних біоресурсів»*, 15-17 травня 2018 року, Київ, 102–104.

6. **Маліщук, І. В.**, & Марченко, М. М. (2017). Зміни активності каталази, пероксидази та цитохром оксидази *Desmodesmus armatus* (Chod.) Hegew за індукції каротиногенезу. (Тези доповіді). *Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю, присвячена 20-річчю заснування наукового фахового видання України «Наукові записки Тернопільського національного педагогічного університету імені Володимира Гнатюка. Серія Біологія»*, 20-22 квітня 2017 року, Тернопіль, 202-205.

7. **Маліщук, І. В.** & Чебан, Л. М. (2016). Індукція вторинного каротиногенезу у *Desmodesmus armatus* (Chod.) Hegew в умовах двостадійного культивування. (Тези доповіді). *Актуальні проблеми біохімії та біотехнології. Тези доповідей конференції-конкурсу молодих учених*, 26-27 травня 2016 року, Київ, 33.

8. **Маліщук, І. В.**, Чебан, Л. М. & Гринько, О. Е. (2016). Видовий склад фітопланктону річки Дністер. (Збірник тез). *Біотехнологія: звершення та надії: Збірник тез V Всеукраїнської науково-практичної конференції студентів, аспірантів та молодих вчених*, 12-13 травня 2016 року, Київ, 204.

9. **Маліщук, І. В.**, Гринько, О. Е., & Чебан, Л. М. (2015). Амінокислотний склад *Desmodesmus armatus* (Chod.) Hegew, культивованого на скидній воді із рибоводної установки замкнутого водопостачання. (Збірник тез). *«Біотехнологія XXI століття»: Тези доповідей IX Всеукраїнської науково-практичної конференції, присвяченої 170-річчю від дня народження Іллі Мечникова*, 24 квітня 2015 року, Київ, 63.

10. Маліщук, І. В., Ситник, М. Б., & Чебан, Л. М. (2015). Хлорофіли та каротиноїди *Chlorella vulgaris* Beijerinck при культивуванні на скидній воді із УЗВ. (Збірник тез). *Біотехнологія: звершення та надії: Збірник тез IV Всеукраїнської науково-практичної конференції студентів, аспірантів та молодих вчених*, 21-22 травня 2015 року, Київ, 150.

## АНОТАЦІЯ

**Дорош І.В. Оптимізація умов культивування біомаси мікроводоростей як джерела комплексу нутрієнтів. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.**

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата біологічних наук за спеціальністю 03.00.20 – біотехнологія. – Чернівецький національний університет імені Юрія Федьковича. – Державна установа «Інститут харчової біотехнології та геноміки Національної академії наук України», Київ, 2025.

Дисертація присвячена вивченню ефективних методів культивування одноклітинних мікроводоростей *Desmodesmus armatus* (Chod.) Hegew. та *Acutodesmus dimorphus* (Turpin) Tsarenko з метою оптимізації їхнього біохімічного складу для потреб аквакультури. Зокрема, досліджуються можливості використання як альтернативного живильного середовища скидних вод із установки замкненого водопостачання та вплив різноманітних стимуляторів на процеси накопичення цільових біологічно активних речовин, таких як каротиноїди. Аналізуються фактори, що впливають на продуктивність та якісний склад біомаси, зокрема концентрації індукторів каротиногенезу та осморегуляторів. Ці дослідження спрямовані на підвищення ефективності аквакультурного виробництва та розробку нових підходів до раціонального використання водних ресурсів.

У роботі вперше проведено дослідження, які показали, що при вирощуванні *D. armatus* та *A. dimorphus* на скидній воді з УЗВ продуктивність цих водоростей залишалася високою до 40-го дня експерименту. Таким чином було показано, що скидна вода забезпечує досліджувані види мікроводоростей доступом до основних нутрієнтів, необхідних для їхнього росту, що робить її придатною для застосування в аквакультурі.

З метою збільшення вмісту каротиноїдів у біомасі у роботі вперше для досліджуваних культур було використано методи індукції каротиногенезу шляхом введення у живильне середовище під час другої фази культивування на скидній воді з УЗВ спеціальних промоторів вільнорадикального окислення, зокрема суміші  $Fe^{2+}$  та  $H_2O_2$  чи осморегулятора NaCl. У результаті застосування цих речовин рівень вмісту каротиноїдів зріс до 27 мг/г у культурі *D. armatus* і до 24 мг/г у культурі *A. dimorphus*, що свідчить про значний стимулюючий ефект цих речовин на процес каротиногенезу в обох видах мікроводоростей. При цьому спостерігалася зниження вмісту первинних каротиноїдів та збільшення частки вторинних каротиноїдів. Таким чином, запропонована методика дозволяє індукувати процес каротиногенезу, забезпечуючи зростання вмісту вторинних каротиноїдів без використання дорогих добавок.

Уперше збагачені каротиноїдами культури використовувалися як кормовий субстрат для вирощування зоопланктону, зокрема для *Daphnia magna*, *Semiocephalus vetulus* та *Moina macroscopa*. Аналіз результатів експериментів показав, що найбільш ефективною є схема порційного внесення культури мікроводоростей, попередньо збагаченої каротиноїдами шляхом індукції  $\text{Fe}^{2+}$  (200 мМ) з  $\text{H}_2\text{O}_2$  ( $10^{-4}$  мМ). Також у роботі показано, що отримана біомаса мікроводоростей із підвищеним вмістом каротиноїдів та ліпідів виявилася ефективною для покращення якісних характеристик популяцій зоопланктону, що відкриває можливості для подальшого використання таких методів у біотехнологічних процесах виробництва живих кормів для аквакультури.

У рамках дослідження було розроблено математичні моделі балансу для опису динаміки накопичення каротиноїдів та біомаси за різнонаправленої дії субстратів. Для реалізації моделей були створені спеціалізовані прикладні програми у середовищі Wolfram Mathematica, а також за допомогою мови програмування Python, які дозволяють легко модифікувати параметри системи та спостерігати за впливом змін на поведінку культури мікроводоростей.

Підходи, що розроблялися у дисертаційній роботі, дозволяють знизити витрати на виробництво, оптимізувати використання водних ресурсів, а також отримати більш збагачені корми для аквакультури, які сприяють покращенню росту, здоров'я та відтворювальних характеристик водних організмів.

**Ключові слова:** мікроводорості, *Desmodesmus armatus* (Chod.) Hegew., *Acutodesmus dimorphus* (Turpin) Tsarenko, каротиногенез, скидні води з УЗВ

## SUMMARY

**Dorosh I.V. Optimization of conditions for the cultivation of microalgae biomass as a source of nutrient complex. – Qualifying scientific work on the rights of a manuscript.**

Thesis for the degree of Candidate of Biological Sciences, specialty 03.00.20 – biotechnology – Yuriy Fedkovych Chernivtsi National University. – Institute of Food Biotechnology and Genomics of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv, 2025.

The dissertation is devoted to the study of effective methods of cultivation of unicellular microalgae *Desmodesmus armatus* (Chod.) Hegew. and *Acutodesmus dimorphus* (Turpin) Tsarenko in order to optimize their chemical composition for aquaculture. In particular, the possibilities of using wastewater from recirculation aquatic systems (RAS) as an alternative nutrient medium and the effect of various stimulants on the processes of accumulation of target biologically active substances, such as carotenoids, are investigated. The factors affecting the productivity and quality composition of biomass, in particular the concentration of carotenogenesis inducers and osmoregulators, are analyzed. These studies are aimed at improving the efficiency of aquaculture production and developing new approaches to the rational use of water resources.

The study was the first to show that when *D. armatus* and *A. dimorphus* were

grown on wastewater from the RAS, the productivity of these algae remained high until day 40 of the experiment. Thus, it was shown that the wastewater provides the studied microalgae species with access to the main nutrients necessary for their growth, which makes it suitable for use in aquaculture.

In order to increase the content of carotenoids in biomass, for the first time, the methods of induction of carotenogenesis were used for the studied cultures by introducing special promoters of free radical oxidation, in particular a mixture of  $\text{Fe}^{2+}$  and  $\text{H}_2\text{O}_2$  or osmoregulator  $\text{NaCl}$ , into the culture medium during the second phase of cultivation on the waste water from RAS. As a result of the use of these substances, the level of carotenoids increased to 27 mg/g in the culture of *D. armatus* and to 24 mg/g in the culture of *A. dimorphus*, which indicates a significant stimulating effect of these substances on the process of carotenogenesis in both microalgae types. At the same time, a decrease of primary carotenoids and an increase in the proportion of secondary carotenoids were observed. Thus, the proposed method allows inducing the process of carotenogenesis, providing an increase of secondary carotenoid concentration without the use of expensive additives.

For the first time, carotenoid-enriched cultures were used as a feed substrate for the cultivation of zooplankton, in particular for *Daphnia magna*, *Semiocephalus vetulus* and *Moina macrocopa*. The analysis of the experimental results showed that the most effective scheme is the batch introduction of microalgae culture pre-enriched with carotenoids by using  $\text{Fe}^{2+}$  (200 mM) with  $\text{H}_2\text{O}_2$  ( $10^{-4}$  mM). The work also shows that the obtained microalgal biomass with a high level carotenoid and lipids was efficient in improving the quality characteristics of zooplankton populations, which opens up opportunities for further use of such methods in biotechnological processes of live feed production for aquaculture.

As part of the study, mathematical balance models were developed to describe the dynamics of carotenoid and biomass accumulation under the multidirectional action of substrates. To implement the models, specialized software applications were created using Wolfram Mathematica environment, as well as Python programming language, which allow for easy modification of system parameters and observation of the impact of changes on the behavior of microalgae culture.

The approaches developed in this thesis help to reduce production costs, optimize the use of water resources, and produce more enriched aquaculture feeds that improve the growth, health and reproductive characteristics of aquatic organisms.

**Key words:** microalgae, *Desmodesmus armatus* (Chod.) Hegew., *Acutodesmus dimorphus* (Turpin) Tsarenko, carotenogenesis, wastewater from RAS.