

УДК 606.604  
doi:10.21685/2307-9150-2021-1-7

## Культивирование *Chlorella sorokiniana* в естественных условиях открытого воздуха Поволжского региона и лабораторного эксперимента под влиянием постоянного магнитного поля

О. А. Арефьева<sup>1</sup>, Л. Н. Ольшанская<sup>2</sup>, Р. Ш. Валиев<sup>3</sup>

<sup>1,2</sup>Саратовский государственный технический университет имени Гагарина Ю. А., Саратов, Россия

<sup>3</sup>Медицинский университет «Ревиз», Саратов, Россия

<sup>1</sup>oarefeva@inbox.ru, <sup>2</sup>ecos123@mail.ru, <sup>3</sup>rw\_84@mail.ru

**Аннотация.** *Актуальность и цели.* *Chlorella sorokiniana* используется для производства биотоплива и выделения биологически активных веществ. Биомасса может быть выращена в малоэнергос затратных и экономичных условиях. Цель данной работы – оценить влияние условий культивирования микроводорослей *Ch. Sorokiniana* на открытом воздухе и влияние постоянного магнитного поля в лабораторных условиях на размножение, рост и развитие микроводоросли. *Материалы и методы.* Рост популяции оценивали по оптической плотности суспензии хлореллы и дальнейшего подсчета в камере Горяева на количество млн клеток в мл. Для статистических анализов результатов экспериментов использовалась программная среда R версии 3.4.0. В работе проведены сравнения количественных показателей размножения, а также размеров клеток хлореллы после и без воздействий постоянного магнитного поля (ПМП). Для оценки зависимости скорости роста хлореллы от температуры атмосферного воздуха был проведен регрессионный анализ. *Результаты.* Визуально (под микроскопом) выявлено, что растущая популяция в биореакторе, размещенном на открытом воздухе, отличается большей долей клеток вытянутой формы (молодые клетки) и меньшей – округлой формы (старые клетки). Интенсивный рост и развитие клеток происходит в июле и августе с минимальным количеством пасмурных дней. Оптимальный температурный режим для постоянного обновления клеток хлореллы достигался при 27–30 °С. При анализе влияния ПМП напряженностью 2 кА/м на рост и размножение хлореллы в лабораторных условиях был выявлен интенсивный рост клеток в течение первых 3 сут культивирования. Прирост биомассы увеличился в 3–4 раза и достигал значения 7,5 млн кл/мл. При воздействии ПМП напряженностью 0,5 и 1,0 кА/м прироста концентрации клеток в течение всего периода культивирования не наблюдалось. *Выводы.* В результате проделанной работы установлено, что воздействие постоянно высоких температур (30–36 °С) в условиях открытого воздуха без подвода дополнительной аэрации является неблагоприятным фактором для развития микроводорослей *Ch. sorokiniana*. Оптимальный температурный режим для постоянного обновления, роста и развития клеток хлореллы в естественных условиях достигался при 27–30 °С. В ходе исследований, проведенных в лабораторных условиях, выявлен максимальный прирост клеток хлореллы при воздействии ПМП напряженностью 2 кА/м в течение первых 3 сут культивирования, после чего

наблюдалась фаза стабилизации. Показано, что использование магнитного поля способствует агрегированию клеток.

**Ключевые слова:** микроводоросль, хлорелла, *Chlorella sorokiniana*, культивирование, биомасса, постоянное магнитное поле

**Финансирование:** Результаты работы получены в рамках выполнения Федеральной целевой программы «Исследования и разработки по приоритетным направлениям развития научно-технологического комплекса России на 2014–2020» по теме: «Разработка и внедрение инновационных биотехнологий переработки микроводорослей *Chlorella sorokiniana* и ряски *Lemna minor*».

**Для цитирования:** Арефьева О. А., Ольшанская Л. Н., Валиев Р. Ш. Культивирование *Chlorella sorokiniana* в естественных условиях открытого воздуха Поволжского региона и лабораторного эксперимента под влиянием постоянного магнитного поля // Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Естественные науки. 2021. № 1. С. 74–86. doi:10.21685/2307-9150-2021-1-7

### **Cultivation of *Chlorella sorokiniana* in natural open air conditions of the Volga region and in a laboratory experiment under the effect of a constant magnetic field**

**O.A. Aref'eva<sup>1</sup>, L.N. Ol'shanskaya<sup>2</sup>, R.Sh. Valiev<sup>3</sup>**

<sup>1,2</sup>Yuri Gagarin State Technical University of Saratov, Saratov, Russia

<sup>3</sup>Saratov Medical University "Reaviz", Saratov, Russia

<sup>1</sup>oarefeva@inbox.ru, <sup>2</sup>ecos123@mail.ru, <sup>3</sup>rw\_84@mail.ru

**Abstract.** *Background.* *Chlorella sorokiniana* is used for the production of biofuels and the release of biologically active substances. Biomass can be grown in low-energy and economical conditions. The purpose of this work is to assess the influence of the cultivation's conditions of microalgae *Ch. sorokiniana* in the open air and the effect of a constant magnetic field in laboratory conditions on the reproduction, growth and development of microalgae. *Materials and methods.* Population growth was assessed by the optical density of the chlorella suspension and further counting in the Goryaev chamber for the number of million cells per ml. For statistical analysis of the experimental results, we used the R version 3.4.0 software environment. In this work, we compared the quantitative indicators of reproduction, as well as the sizes of chlorella cells after and without the effects of constant magnetic field (CMF). Regression analysis was carried out to assess the dependence of the growth rate of chlorella on the air temperature. *Results.* Visually (under a microscope), it was revealed that the growing population in a bioreactor placed in the open air has a larger proportion of elongated cells (young cells) and a smaller proportion of rounded cells (old cells). Intensive growth and development of cells occurs in July and August with a minimum of cloudy days. The optimal temperature regime for constant renewal of chlorella cells was reached at 27–30 °C. When analyzing the influence of CMF with a strength of 2 kA/m on the growth and reproduction of chlorella in laboratory conditions, an intensive growth of cells was revealed during the first 3 days of cultivation. The increase in biomass increased 3–4 times and reached 7,5 million cells/ml. When exposed to CMF with a strength of 0,5 and 1,0 kA/m, no increase in cell concentration was observed during the entire cultivation period. *Conclusions.* As a result of the work done, it was found that exposure to constantly high temperatures (30–36 °C) in open air without additional aeration is an unfavorable factor for the development of *Ch. sorokiniana*. The optimal temperature regime for constant renewal, growth and development of chlorella cells in natural conditions was achieved at 27–30 °C. In the course of studies carried out in laboratory conditions, the maximum increase in chlorella cells was revealed when exposed to CMF with a voltage of

2 kA/m during the first 3 days of cultivation, after which a stabilization phase was observed. It has been shown that the use of a magnetic field promotes cell aggregation.

**Keywords:** microalgae, chlorella, *Chlorella sorokiniana*, cultivation, biomass, constant magnetic field

**Acknowledgments:** the research results have been obtained within the framework of the Federal Target Program “Research and development in priority fields of the Russian scientific and technological complex development in 2014–2020” in the topic “Development and implementation of innovative biotechnologies of *Chlorella sorokiniana* and *Chlorella sorokiniana* processing”.

**For citation:** Aref'eva O.A., Ol'shanskaya L.N., Valiev R.Sh. Cultivation of *Chlorella sorokiniana* in natural open air conditions of the Volga region and in a laboratory experiment under the effect of a constant magnetic field. *Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedeniy. Povolzhskiy region. Estestvennye nauki = University proceedings. Volga region. Natural sciences*. 2021;1:74–86. (In Russ.). doi:10.21685/2307-9150-2021-1-7

## Введение

В последние годы для получения ценных питательных компонентов и энергии из биомассы с целью минимизации вреда окружающей среде в качестве объектов часто применяют высшие и низшие растения. В ряде работ [1–3] показано, что микроводоросли хлорелла обладают высокой продуктивностью, большим запасом хлорофилла и комплексом редчайших питательных веществ (белки, пектины, липиды и др.). Биомасса может быть выращена в условиях с минимальными затратами площадей, что является малоэнергетическим и экономичным. В последнее время рассматривают использование хлореллы для производства биотоплива, поскольку она содержит значительное количество насыщенных и мононенасыщенных жирных кислот [4–7].

Для культивирования хлореллы в естественных природных условиях, а также в биореакторах на открытом воздухе наиболее подходящими являются климатические условия с длительным теплым периодом. Для интенсификации процесса размножения, роста и развития клеток растений используют различные физические факторы [8–11]. Известно, что воздействие магнитного поля (МП) может проявляться либо как стимулятор, либо как замедлитель роста и развития клеток растений. На ход этих процессов оказывает влияние не только сила, но и напряженность, и направление МП [10–12]. Это действие на физиологические функции растений может проявляться либо как результат влияния на генетический аппарат, например через деление клетки, либо вследствие непосредственного воздействия на обмен веществ. Поэтому целесообразно провести эксперимент по влиянию МП на прирост биомассы *Ch. sorokiniana*, поскольку данный фактор в объемах производства не является энергетическим.

Цель данной работы – оценить возможность культивирования микроводорослей *Ch. sorokiniana* на открытом воздухе и влияние постоянного магнитного поля (ПМП) в лабораторных условиях на размножение, рост и развитие микроводоросли *Ch. sorokiniana*, используемой для получения биогаза и выделения широкого круга биологически активных веществ.

## Объекты и методы исследований

Объектами исследования в работе служил исходный штамм микроводоросли *Ch. sorokiniana*. Штамм микроводоросли был предоставлен Геттингенским университетом (Германия).

**Культивирование водоросли** в лабораторных условиях и на открытом воздухе осуществляли в питательной среде для выращивания хлореллы, используя состав, приведенный в табл. 1.

Таблица 1

Состав питательной среды для культивирования хлореллы

Наименование вещества	Концентрация, мг/л
ZnSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	100,00
CuSO <sub>4</sub> ·5H <sub>2</sub> O	10,00
CoSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	100,00
MnCl <sub>2</sub> ·4H <sub>2</sub> O	500,00
H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> ·WF	50,00
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> ·2H <sub>2</sub> O	100,00
FeCl <sub>3</sub> ·6H <sub>2</sub> O	4,00
Na <sub>2</sub> EDTA·2H <sub>2</sub> O	6,00
KNO <sub>3</sub>	3,03
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	0,32
MgSO <sub>4</sub> ·7H <sub>2</sub> O	2,40

Посев хлореллы в обоих вариантах эксперимента осуществляли из чистой популяции, сформированной в диапазоне температур 19–23 °С и освещенности лампой дневного света 2500 люкс.

**Культивирование хлореллы в лабораторных условиях при воздействии ПМП.** Для проведения эксперимента по воздействию ПМП на прирост биомассы хлореллы в лабораторных условиях использовали:

- источник питания постоянного тока Б5-43, подключенный к медной катушке (рис. 1). Напряженность постоянного магнитного поля составляла (H, кА/м: 0,5; 1,0; 2,0);
- аэратор воздуха с расходом 1,5 л/мин;
- лампы дневного света (ЛДС), интенсивность освещенности 1300 Лк;
- контрольный образец (культивирование без воздействия магнитного поля).

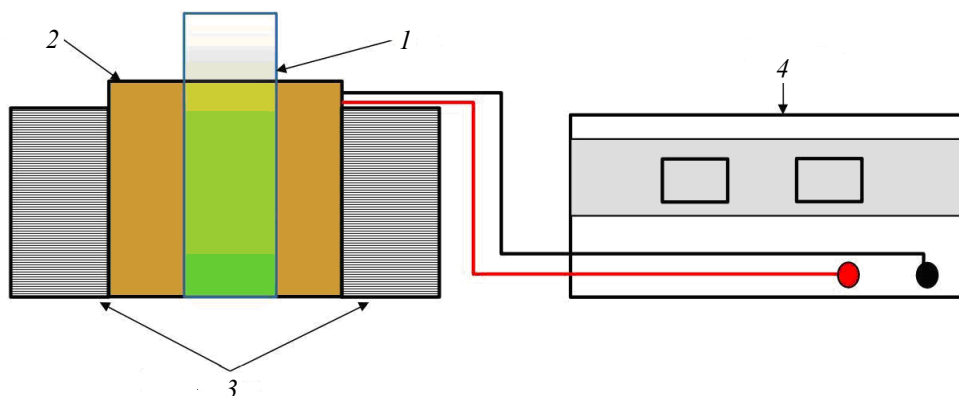


Рис. 1. Схема установки с постоянными магнитными полями:

1 – фитобиореактор; 2 – медная катушка; 3 – металлические пластины;  
4 – источник питания постоянного тока Б5-43

Культивирование проводили в режиме «день/ночь» (16/8 ч) в фотобиореакторе, который представлял собой стеклянный сосуд цилиндрической формы с толщиной стенок 2–3 мм, высотой 380 мм, диаметром 50 мм, куда помещалась питательная среда в количестве 500 мл.

Температура раствора суспензии составляла  $26 \pm 0,3$  °С.

Рост популяции оценивали по оптической плотности суспензии хлореллы, с помощью спектрофотометра марки КФК – 3-01 при длине волны 750 нм и дальнейшего подсчета в камере Горяева на количество млн клеток в мл.

Измерение pH среды осуществляли с помощью pH-метра (Преобразователь ионометрический И-500 Аквилон), что является обязательным в начале и конце опыта; при хроническом эксперименте – в дни учета биологических показателей.

**Культивирование хлореллы на открытом воздухе** также проводили в режиме 16/8 ч в местах с хорошей солнечной освещенностью, дополнительная аэрация не проводилась. В качестве фотобиореактора использовали сосуд прямоугольной формы с толщиной стенок 2–3 мм, длиной 320 мм, шириной 150 мм, высотой 210 мм. Период наблюдения июль–сентябрь.

**Статистические методы.** Для статистических анализов результатов экспериментов использовалась программная среда R версии 3.4.0 [13]. В работе проводились сравнения количественных показателей размножения, а также размеров клеток хлореллы после и без воздействий ПМП. Проверка на нормальность распределения данных проводилась путем вычисления критерия Шапиро – Уилка *W*. Данный критерий – один из наиболее эффективных критериев для проверки нормальности распределения случайных величин, в том числе и в малых выборках [14, 15]. Для проверки равенства дисперсий в выборках использовался критерий Бартлетта *T*. Уровень значимости принимали равным 0,05. Для оценки зависимости скорости роста хлореллы от температуры атмосферного воздуха был проведен регрессионный анализ.

### Результаты и обсуждение

Для естественных природных условий Саратовской области характерен теплый период – с мая по сентябрь. Первый теплый период начинается в мае и заканчивается в первой декаде июня; второй – продолжается до середины августа, когда устанавливается среднесуточная температура +15 °С; третий период длится до третьей декады сентября. Средняя температура воздуха днем может составлять в июне – 19 °С, в июле – 24 °С, в августе – 23 °С, в сентябре – 15 °С. Для Саратовской области характерны также засушливые периоды с температурой воздуха 30–36 °С.

Интенсивность освещения в теплый период достигает 4000 люкс в солнечные дни и 1300–2000 Лк в пасмурные. В исследованиях выращивание водорослей *Ch. sorokiniana* на открытом воздухе в условиях Поволжского региона было проведено начиная с июля.

Интенсивный рост клеток наблюдался с первых дней и продолжался в течение всего периода культивирования (рис. 2) при обновлении питательной среды через каждые 7 сут и регулировании pH.

Было проведено исследование зависимости скорости роста хлореллы от температуры воздуха окружающей среды (рис. 3). Результаты статистического

анализа этой зависимости с проверкой значимости коэффициентов уравнения регрессии приведены в табл. 2 и 3. Результаты свидетельствуют о линейном характере зависимости.

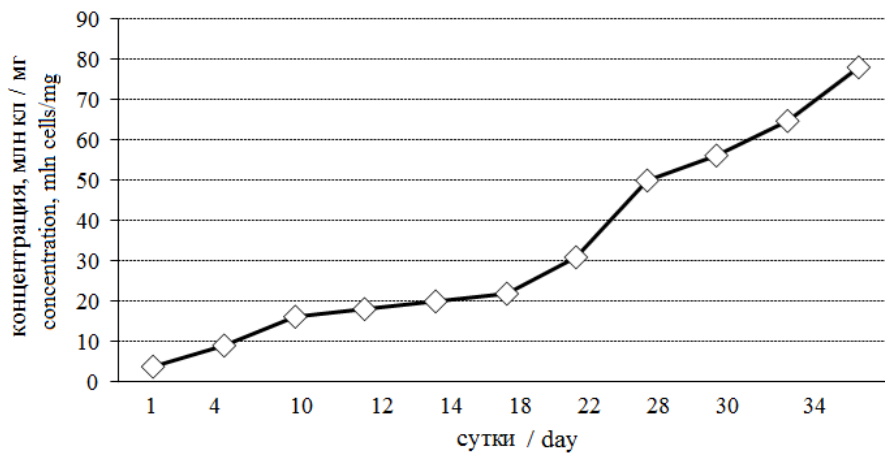


Рис. 2. Зависимость концентрации клеток *Ch. sorokiniana* от продолжительности культивирования в условиях открытого воздуха

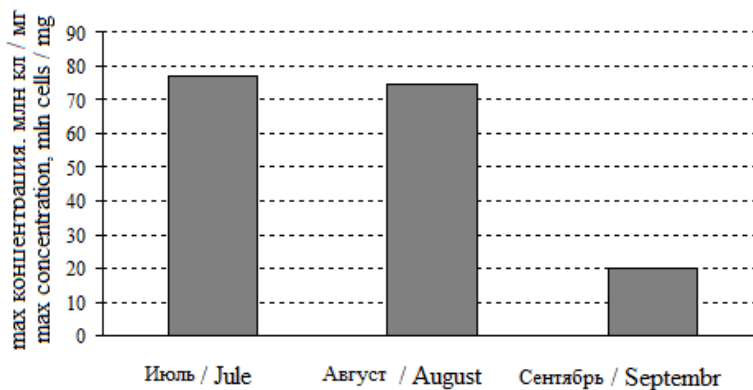


Рис. 3. Максимумы прироста клеток *Ch. sorokiniana* в зависимости от месяца года

Таблица 2

Дисперсионный анализ проверки значимости регрессионной модели

Показатели	Число степеней свободы	Сумма квадратов отклонений	Усредненные квадраты отклонений	F-критерий	p-значение
Регрессия	1	1,1821	1,1821	139,1647	0,0003
Остатки	4	0,0340	0,0085		
Итого	5	1,2161			

Визуально (под микроскопом) выявлено, что растущая популяция отличается большей долей клеток вытянутой формы (молодые клетки) и

меньшей – округлой формы (старые клетки). При этом интенсивность роста зависела от суточных колебаний температур. В стоячей среде на открытом воздухе с ярким солнечным освещением на начальном этапе происходило очень быстрое размножение клеток, но затем в условиях воздействия постоянных длительных высоких температур (30–36 °С) наблюдалось снижение размножения и развития молодых клеток и, в конечном итоге, их гибель.

Таблица 3

## Значимость коэффициентов регрессии

Показатели	Коэффициенты	Средне-квадратическое отклонение	<i>t</i> -статистика	<i>p</i> -значение
Свободный член (пересечение) линии оценки	-1,3517	0,3297	-4,1005	0,0149
Температура	0,1372	0,0116	11,7968	0,0003

Таким образом, воздействие постоянно высоких температур является неблагоприятным фактором для роста микроводорослей.

Проведенный анализ условий годовой сезонности для выращивания хлореллы на открытом воздухе показал, что активное размножение, рост и развитие клеток происходят в июле и августе с минимальным количеством пасмурных дней (см. рис. 3). Оптимальный температурный режим для постоянного обновления клеток хлореллы достигался при 27–30 °С (рис. 4). Цвет суспензии в этот период был насыщенно зеленым, и постоянно увеличивалась концентрация клеток. В сентябре прирост биомассы сокращался, что связано с уменьшением светового дня, уменьшением солнечной активности и понижением суточной температуры.

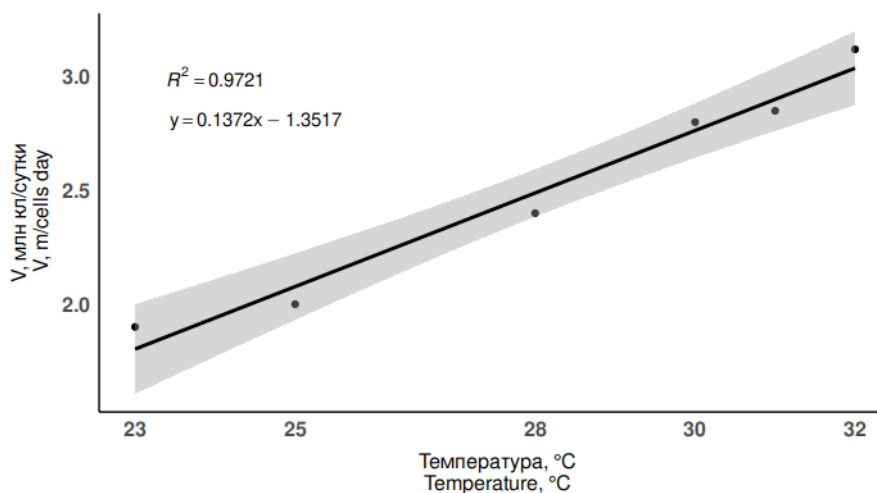


Рис. 4. Зависимость скорости роста клеток *Ch. sorokiniana* от дневной температуры атмосферы. Серым цветом показана 95 % доверительная область линии регрессии

Таким образом, культивирование хлореллы в естественных условиях Поволжского региона в биореакторе рекомендуется проводить в теплый период времени года с мая по сентябрь. Необходимо еженедельно в аппарат дополнительно вносить раствор свежей питательной среды для поддержания необходимой концентрации микроэлементов и оптимальных параметров pH.

При анализе влияния ПМП напряженностью 2 кА/м на рост и размножение хлореллы в лабораторных условиях был выявлен интенсивный рост клеток в течение первых 3 сут культивирования. Прирост биомассы увеличился в 3–4 раза и достигал значения 7,5 млн кл/мл при начальном количестве клеток в суспензии 2,5 млн кл/мл (производили подсчет клеток в камере Горяева в заданном объеме жидкости по известной величине оптической плотности суспензии клеток при длине волны 750 нм). По истечении 3 сут наступала фаза стабилизации (рис. 5). Визуально наблюдалась агглютинация и осаждение клеток.

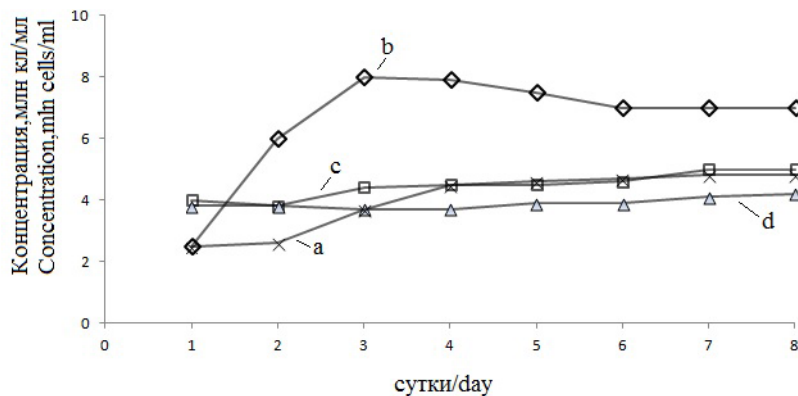


Рис. 5. Зависимость концентрации клеток *Ch. sorokiniana* при воздействии ПМП ( $H = 0,5; 1; 2$  кА/м):  
 a – без ПМП; b – ПМП, 2 кА/м; c – ПМП, 1 кА/м; d – ПМП, 0,5 кА/м

При воздействии ПМП напряженностью 0,5 и 1,0 кА/м прироста концентрации клеток в течение всего периода культивирования не наблюдалось.

Известно, что изменение pH среды служит интегральным косвенным показателем состояния культуры [16]. Чем выше жизнеспособность водорослей, тем значительнее изменяется при действии инсоляции реакция среды (подщелачивание) (рис. 6) в результате фотосинтетической ассимиляции углекислоты. Проведенные исследования величины pH (см. рис. 6) показали, что благоприятное влияние на жизнеспособность водоросли оказывает совместное воздействие освещения лампой дневного света (ЛДС) 1300 люкс и ПМП напряженностью 2 кА/м. Через 5 сут pH достигает 11 единиц и стабилизируется.

Было исследовано влияние ПМП 2 кА/м на размеры клеток хлореллы после культивирования в среде с аэрацией (рис. 7).



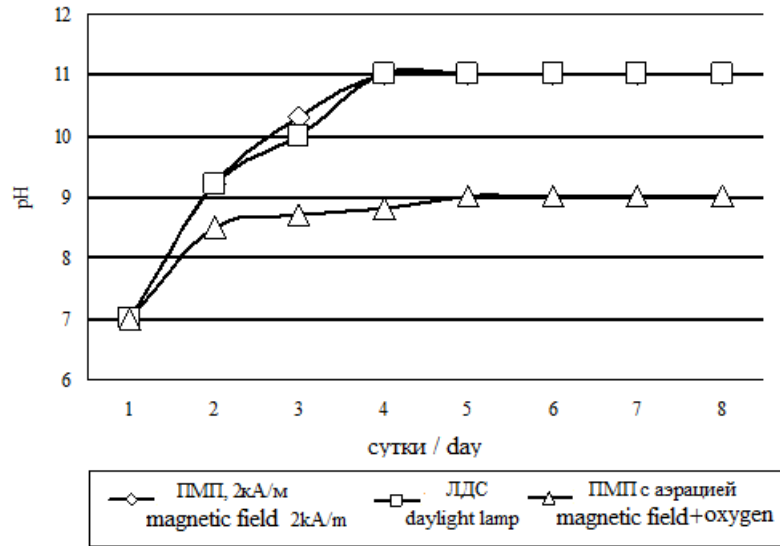


Рис. 6. Зависимость pH среды от длительности культивирования *Ch. sorokiniana* в среде при воздействии различных факторов (ПМП, ЛДС, аэрации)

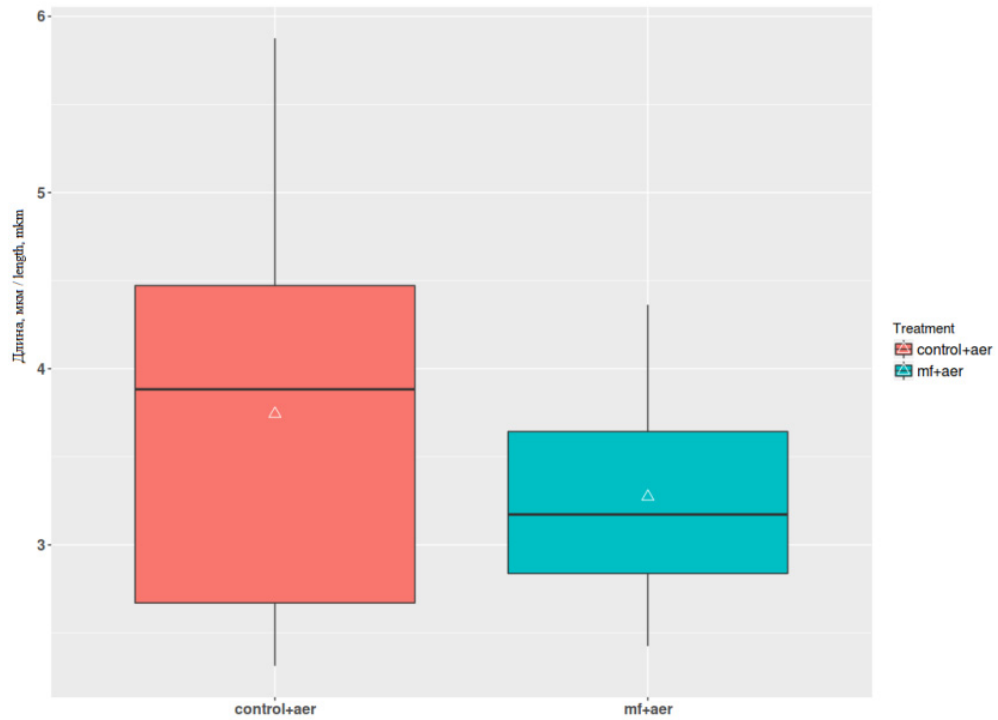


Рис. 7. Размеры клеток хлореллы в опыте с постоянным магнитным полем (бокспот-график, «ящики с усами»). Control + aer – контрольная группа (без действия постоянного магнитного поля + аэрация), mf + aer – после действия постоянного магнитного поля, 2 кА/м + аэрация. Нижняя и верхняя границы «ящиков» – 0,25- и 0,75-процентили соответственно. Линии внутри «ящиков» – медианы. Вертикальные линии, проведенные от «ящиков», указывают на минимальные и максимальные значения в выборках. Треугольниками обозначены средние значения,  $n = 10$

Для выбора метода статистической обработки результатов сначала был проведен анализ выборок на равенство дисперсий и нормальность распределения значений. Результат расчета критерия Бартлетта ( $T = 2,7914$ ,  $df = 1$ ,  $p$ -значение = 0,0950) свидетельствует об однородности дисперсий в выборке. Проведенный тест Шапиро – Уилка показал нормальность распределения величины размера клеток ( $W = 0,9400$ ,  $p$ -значение = 0,5527 – для выборки после действия ПМП;  $W = 0,9280$ ,  $p$ -значение = 0,4249 – для контрольной выборки, без воздействия ПМП). На основании этих результатов был выбран однофакторный параметрический дисперсионный анализ для проверки гипотезы о различии между групповыми средними. Результаты анализа свидетельствуют об отсутствии влияния ПМП 2 кА/м на размеры клеток хлореллы ( $F = 1,158$ ,  $df = 1,15$ ,  $p$ -значение = 0,2961).

### Заключение

В результате проведенных исследований установлено, что воздействие постоянно высоких температур (30–36 °С) в условиях открытого воздуха без подвода дополнительной аэрации является неблагоприятным фактором для развития микроводорослей *Ch. sorokiniana*.

Оптимальный температурный режим для постоянного обновления, роста и развития клеток хлореллы в естественных условиях достигался при 27–30 °С.

В ходе исследований, проведенных в лабораторных условиях, выявлен максимальный прирост клеток хлореллы при воздействии ПМП напряженностью 2 кА/м в течение первых 3 сут культивирования, после чего наблюдалась фаза стабилизации. Прирост биомассы увеличивался в 3–4 раза. Показано, что использование магнитного поля способствует агрегированию клеток. При воздействии ПМП напряженностью 0,5 и 1,0 кА/м видимого прироста концентрации клеток хлореллы по сравнению с контролем не наблюдалось в течение всего периода культивирования.

Таким образом, *Ch. sorokiniana* хорошо адаптируется к культивированию в естественных природных условиях Саратовской области, что может быть применено на практике для создания биофермы по получению биогаза и выделению большого круга биологически активных веществ.

### Список литературы

1. Dvoretzky D. S., Dvoretzky S. I., Peshkova E. V. Optimization of the Process of Cultivation of Microalgae *Chlorella Vulgaris* Biomass with High Lipid Content for Biofuel Production // Chemical Engineering Transactions. 2015. № 43. P. 361–366.
2. Politaeva N. A., Atamanyuk I. V., Smyatskaya Y. A. [et al.]. Waste-free technology of *Chlorella sorokiniana* microalgae biomass usage for lipids and sorbents production // Известия высших учебных заведений. Сер.: Химия и Химическая технология. 2018. Т. 61, № 12. С. 137–143.
3. Богданов Н. И. Хлорелла: зеленый корм круглый год // Комбикорма. 2004. № 3. С. 66–72.
4. Пилигаев А. В., Сорокина К. Н., Брянская А. В. [и др.]. Исследование биоразнообразия микроводорослей Западной Сибири для применения в процессах получения биотоплива третьего поколения // Вавиловский журнал генетики и селекции. 2013. Т. 17, № 2. С. 359–367.

5. Сорокина К. Н., Яковлев В. А., Пилигаев А. В. [и др.]. Потенциал применения микроводорослей в качестве сырья для биоэнергетики // Катализ в промышленности. 2012. № 2. С. 63–72.
6. Мещерякова Ю. В., Нагорнов С. А. Получение сырья для биодизельного топлива на основе масла микроводоросли хлорелла // Инновации в сельском хозяйстве. 2013. № 3. С. 39–41.
7. Смятская Ю. А., Политаева Н. А. Получение биогаза путем сбраживания остаточной биомассы микроводорослей и ряски // Бутлеровские сообщения. 2019. Т. 60, № 12. С. 146–151.
8. Politaeva N., Smyatskaya Y., Slugin V. [et al.]. Effect of laser radiation on the cultivation rate of the microalga *Chlorella sorokiniana* as a source of biofuel // IOP Conference. Ser.: Earth and Environmental Science. 2018. Vol. 115. P. 012001.
9. Богданова А. А., Суховский Н. А. Влияние различного напряжения и времени воздействия электростатического поля на морфофизиологические показатели *CHLORELLA VULGARIS* ИФР № С-111 // Материалы докладов : XXI Всерос. молодеж. науч. конф. экологии (посвящ. 70-летию А. И. Таскаева). Сыктывкар : УрО РАН, 2014. 372 с.
10. Богатина Н. И., Шейкина Н. В. Влияние магнитных полей на растения // Ученые записки Таврического национального университета имени В. И. Вернадского. Сер.: Биология, химия. 2010. Т. 23, № 4. С. 45–55.
11. Ольшанская Л. Н., Титоренко О. В., Еремеева Ю. А. Влияние постоянного магнитного поля и ультрафиолетового излучения на рост высших растений и фиторемедиацию почвы от нефтепродуктов // Химическое и нефтегазовое машиностроение. 2015. № 5. С. 43–45. ISSN 0023-1126.
12. Olshanskaja L. N., Russkikh M. L., Arefeva O. A., Vlasova E. L. Intensification of heavy metal extraction from effluent by phytoremediation using electromagnetic radiation energy and NaCl additive // Chemical and Petroleum Engineering . 2013. Vol. 49, № 7-8. P. 555–558.
13. R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing. Vienna, 2020. URL: <https://www.R-project.org/>
14. Кобзарь А. И. Прикладная математическая статистика. Для инженеров и научных работников. М. : Физматлит, 2006. 816 с.
15. Брагазин А. А., Радаев А. А., Нижегородцев А. А., Гелашвили Д. Б. Статистический анализ экстерьерных признаков рабочих особей пород медоносной пчелы *Apis mellifera carnica* Pollmann и *Apis mellifera* // Вестник Нижегородского университета имени Н. И. Лобачевского. 2012. № 2. С. 119–122.
16. Об утверждении Методических указаний по разработке нормативов качества воды водных объектов рыбохозяйственного значения, в том числе нормативов предельно допустимых концентраций вредных веществ в водах водных объектов рыбохозяйственного значения : приказ Федерального агентства по рыболовству от 4 августа 2009 г. № 695 [с изм. и доп.]. URL: <https://www.base.garant.ru>

## References

1. Dvoretzky D.S., Dvoretzky S.I., Peshkova E.V. Optimization of the Process of Cultivation of Microalgae *Chlorella Vulgaris* Biomass with High Lipid Content for Biofuel Production. *Chemical Engineering Transactions*. 2015;43:361–366.
2. Politaeva N.A., Atamanyuk I.V., Smyatskaya Y.A. [et al.]. Waste-free technology of *Shlorella sorokiniana* microalgae biomass usage for lipids and sorbents production. *Izvestiya vysshikh uchebnykh zavedeniy. Ser.: Khimiya i Khimicheskaya tekhnologiya* = University proceedings. Series: Chemistry and chemical technology. 2018;61(12): 137–143.
3. Bogdanov N.I. *Chlorella*: Green food all year round. *Kombikorma* = Combined feed. 2004;3:66–72. (In Russ.)

4. Piligaev A.V., Sorokina K.N., Bryanskaya A.B. [et al.]. Investigation of the biodiversity of microalgae in Western Siberia for use in the production of third-generation biofuel. *Vavilovskiy zhurnal genetiki i seleksii* = Vavilovsky journal of genetics and selection. 2013;17(2):359–367. (In Russ.)
5. Sorokina K.N., Yakovlev V.A., Piligaev A.V. [et al.]. Potential application of microalgae as raw material for bioenergy. *Kataliz v promyshlennosti* = Industrial catalysis. 2012;2:63–72. (In Russ.)
6. Meshcheryakova Yu.V., Nagornov S.A. Obtaining raw materials for biodiesel fuel based on chlorella microalgae oil. *Innovatsii v sel'skom khozyaystve* = Agricultural innovation. 2013;3:39–41. (In Russ.)
7. Smyatskaya Yu.A., Politaeva N.A. Biogas production by fermentation of residual biomass of microalgae and duckweed. *Butlerovskie soobshcheniya* = Butlerov messages. 2019;60(12):146–151. (In Russ.)
8. Politaeva N., Smyatskaya Y., Slugin V. [et al.]. Effect of laser radiation on the cultivation rate of the microalga *Chlorella sorokiniana* as a source of biofuel. *IOP Conference. Ser.: Earth and Environmental Science*. 2018;115:012001.
9. Bogdanova A.A., Sukhovskiy N.A. Influence of different voltage and time of exposure to electrostatic field on morphological parameters *CHLORELLA VULGARIS* IFR No. S-111. *Materialy dokladov: XXI Vseros. molodezh. nauch. konf. ekologii (posvyashch. 70-letiyu A. I. Taskaeva)* = Proceedings of the 21<sup>st</sup> All-Russian youth scientific conference of ecology (dedicated to the 70<sup>th</sup> anniversary of A.I. Taskaev). Syktyvkar: UrO RAN, 2014:372. (In Russ.)
10. Bogatina N.I., Sheykina N.V. The effect of magnetic fields on plants. *Uchenye zapiski Tavricheskogo natsional'nogo universiteta imeni V. I. Vernadskogo. Ser.: Biologiya, khimiya* = Scientific notes of Tavrida National V.I. Vernadsky University. Series: Biology, chemistry 2010;23(4):45–55. (In Russ.)
11. Ol'shanskaya L.N., Titorenko O.V., Ereemeeva Yu.A. Effect of constant magnetic field and ultraviolet radiation on the growth of higher plants and phytoremediation of soil from oil products. *Khimicheskoe i neftegazovoe mashinostroenie* = Chemical and oil and gas engineering. 2015;5:43–45. ISSN 0023-1126. (In Russ.)
12. Olshanskaja L.N., Russkikh M.L., Arefeva O.A., Vlasova E.L. Intensification of heavy metal extraction from effluent by phytoremediation using electromagnetic radiation energy and NaCl additive. *Chemical and Petroleum Engineering*. 2013;49(7-8): 555–558.
13. *R Core Team. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing*. Vienna, 2020. Available at: <https://www.R-project.org/>
14. Kobzar' A.I. *Prikladnaya matematicheskaya statistika. Dlya inzhenerov i nauchnykh rabotnikov* = Applied mathematical statistics. For engineers and scientists. Moscow: Fizmatlit, 2006:816. (In Russ.)
15. Bragazin A.A., Radaev A.A., Nizhegorodtsev A.A., Gelashvili D.B. Statistical analysis of the exterior features of working individuals of the honeybee breeds *Apis Mellifer Karnitz Pohlmann* and *Apis Mellifer Vestnik Nizhegorodskogo universiteta imeni N. I. Lobachevskogo* = Bulletin of Lobachevsky State University of Nizhny Novgorod. 2012;2:119–122. (In Russ.)
16. *Ob utverzhdenii Metodicheskikh ukazaniy po razrabotke normativov kachestva vody vodnykh ob'ektov rybokhozyaystvennogo znacheniya, v tom chisle normativov predel'no dopustimyykh kontsentratsiy vrednykh veshchestv v vodakh vodnykh ob'ektov rybokhozyaystvennogo znacheniya: prikaz Federal'nogo agentstva po rybolovstvu ot 4 avgusta 2009 g. № 695 [s izm. i dop.]*. = On approval of guidelines on developing water quality standards for fishery water basins, including the standards of maximum permissible concentration of hazardous substances in waters of fishery water basins: the order of the Federal Agency for Fishery of 04.08.2009 No. 695 [amended and supplemented]. Available at: <https://www.base.garant.ru> (In Russ.)

**Информация об авторах / Information about the authors**

***Оксана Анатольевна Арефьева***

кандидат биологических наук, доцент  
кафедры природной и техносферной  
безопасности, Саратовский  
государственный технический  
университет имени Гагарина Ю. А.  
(Россия, г. Саратов,  
ул. Политехническая, 77)

E-mail: oarefeva@inbox.ru

***Oksana A. Aref'eva***

Candidate of biological sciences, associate  
professor of the sub-department of natural  
and technosphere safety, Yuri Gagarin  
State University of Saratov  
(77 Politekhnikeskaya street,  
Saratov, Russia)

***Любовь Николаевна Ольшанская***

доктор химических наук, профессор,  
профессор кафедры природной  
и техносферной безопасности,  
Саратовский государственный  
технический университет  
имени Гагарина Ю. А. (Россия,  
г. Саратов, ул. Политехническая, 77)

E-mail: ecos123@mail.ru

***Lubov N. Ol'shanskaya***

Doctor of chemical sciences, professor,  
professor of the sub-department of natural  
and technosphere safety, Yuri Gagarin  
State Technical University of Saratov  
(77 Politekhnikeskaya street, Saratov,  
Russia)

***Ренат Шавкатович Валиев***

кандидат биологических наук, ассистент  
кафедры медико-биологических  
дисциплин, Медицинский университет  
«Реавиз» (Россия, г. Саратов,  
ул. Верхний Рынок, 10)

E-mail: rw\_84@mail.ru

***Renat Sh. Valiev***

Candidate of biological sciences, assistant  
of the sub-department of medical and  
biological disciplines, Saratov Medical  
University "Reaviz" (10 Verkhny rynok  
street, Saratov, Russia)

**Поступила в редакцию / Received 09.11.2020**

**Поступила после рецензирования и доработки / Revised 18.12.2020**

**Принята к публикации / Accepted 14.01.2021**