РАЗДЕЛЕНИЕ СПЕКТРА ПОГЛОЩЕНИЯ АЦЕТОНОВОГО ЭКСТРАКТА DUNALIELLA SALINA

Чернышев Д.Н.¹, Боровков А.Б.²

¹ ФГАОУ ВО «Севастопольский государственный университет»

ул. Университетская, 33, г. Севастополь, 299053, РФ

² ФГБУН «Институт морских биологических исследований им. А.О. Ковалевского РАН»

пр. Нахимова, 2, г. Севастополь, 299011, РФ

e-mail: chernishevd@gmail.com

Аннотация. Методом аппроксимации кривыми Гаусса или GPS (Gauss Peak Spectra) проведено разделение спектра поглощения ацетонового экстракта микроводоросли *Dunaliella salina* на спектры отдельных пигментов, а именно хлорофилла *a*, хлорофилла *b*, лютеина, β -каротина и неоксантина. Так же рассчитаны концентрации хлорофилла *a*, хлорофилла *b* и суммарных каротиноидов методом линейных уравнений. Для установления согласованности результатов измерений использован модифицированный тест Стьюдента и метод Блэнда-Алтмана. Значения концентраций, вычисленные разными способами, согласуются. Среди каротиноидов преобладает лютеин. Среднее соотношение пигментов рассчитанных методом GPS составило: хлорофилла *a* / хлорофилль *b* = 3,9, хлорофиллы/каротиноиды = 1,4, ксантофилы/каротин = 3,0. Соотношение пигментов рассчитанных линейными уравнениями составило: хлорофилл *a* / хлорофилль *b* = 1,3. Предложенная модель может быть использована для точного количественного анализа ацетоновых экстрактов микроводоросли *Dunaliella salina*.

Ключевые слова: микроводоросли, спектры поглощения, кривые Гаусса, каротиноиды, хлорофилл.

SEPARATION OF ABSORPTION SPECTRA OF THE ACETONE EXTRACT DUNALIELLA SALINA

Chernyshev D.N.¹, Borovkov A.B.² ¹Sevastopol State University Universitetskaya St., 33, Sevastopol, 299053, Russian Federation ²Institute of Marine Biological Research named A.O. Kovalevsky RAS Nakhimov St., 2, Sevastopol, 299011, Russian Federation *e-mail: chernishevd@gmail.com*

Abstract. The separation of the absorption spectrum of the acetone extract of microalgae *Dunaliella salina* into the spectra of the detached pigments, namely chlorophyll *a*, chlorophyll *b*, lutein, β -carotene and neoxanthin was carried out by means of GPS (Gauss Peak Spectra). Also the concentration of chlorophyll *a*, chlorophyll *b* and total carotenoids are calculated by linear equations. The modified test of Student and the Bland-Altman method were used to establish the coherence of measurements. The concentration values, calculated by various approaches, are consistent. Lutein prevails among the carotenoids. The average ratio of pigments calculated by GPS amounted to: chlorophyll *a* / chlorophyll *b* = 3,9, chlorophylls / carotenoids = 1,4, xanthophyll / carotene = 3,0. The ratio of pigment calculated by linear equations amounted to: chlorophyll *a* / chlorophyll *b* = 4,4, chlorophylls / carotenoids = 1,3. The suggested model can be used for the precise quantitative analysis of the acetone extracts of microalgae *Dunaliella salina*.

Key words: microalgae, absorption spectra, Gauss curve, carotenoids, chlorophyll

Определение количественного содержания пигментов микроводорослей, это важная задача для биотехнологии, экологии, и физиологии растений. Во многих исследованиях актуально выявление влияния среды на накопление отдельных пигментов.

В настоящее время разработан ряд методов определения качественного и количественного состава пигментов. Эталоном принято считать метод высокоточной жидкостной хроматографии, однако её проведение занимает длительный промежуток времени и является достаточно затратным. Известно, что молекулярная спектроскопия остается одним из наиболее доступных и универсальных методов количественного определения пигментов

Наиболее часто используемый спектрометрический метод определения концентрации хлорофиллов и каротиноидов в экстрактах, это метод линейных уравнений [1]. Для расчета концентрации используются значения оптических плотностей на длинах волн максимумов поглощения отдельных пигментов.

Однако линейными уравнениями можно определить только суммарные значения концентраций каротиноидов. Принято считать, что для определения концентрации отдельно взятых каротиноидов необходимо их хроматографическое разделение [2].

В 2007 году предложен новый чувствительный метод определения пигментного состава в ацетоновых экстрактах. Это метод разделения спектра с помощью кривых Гаусса, или GPS (Gauss Peak Spectra) [3]. По точности метод сравним с высокоточной жидкостной хроматографией [3, 4]

Суть метода заключается в аппроксимации спектра поглощения ацетонового экстракта моделью суммы отдельных пигментов с неизвестными концентрациями. Модель пигмента состоит из суммы кривых Гаусса, с фиксированными полуширинами, положениями максимумов, отношениями амплитуд.

Общая формула модели спектра поглощения ацетонового экстракта представлена ниже:

$$D(\lambda) = D_0 + \lambda \cdot k + d \cdot \left(5710000000 \cdot \exp\left(\frac{-\lambda}{12.5}\right) + \exp\left(\frac{-\lambda}{84}\right)\right) + \sum_{i=1}^{N} Pigment_{i},$$

$$Pigment = C \cdot \varepsilon \cdot \sum_{i=1}^{M} a_{M} \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - \lambda_{\max M}}{\sigma_{M} \cdot p}\right)\right),$$

где

 $D(\lambda)$ –оптическая плотность;

 λ – длина волны, нм;

D₀ – базовая линия (нулевая линия);

k – наклон базовой линии;

d – коэффициент рассеяния света;

С – концентрация, микро моль/л;

ε – коэффициент экстинкции, л/микро моль;

ам – амплитуда отдельного пика;

σм – полуширина пика, нм;

λ_{махМ} – положение максимума отдельного пика, нм;

w – сдвиг максимума пика, нм;

р – коэффициент изменения полуширины пика.

Материал и методы исследований.

Объект исследования – спектры поглощения ацетоновых экстрактов микроводоросли *Dunaliella salina* Teod. Культуру *D. salina*, (штамм IBSS-1) из коллекции культур ИМБИ РАН., выращивали на модифицированной питательной среде Тренкеншу [5] в накопительном режиме, освещенность поверхности культиватора – 80 Вт/м², температура – 26-28 °C, рН среды – 6-7. Культура постоянно снабжалась газо-воздушной смесью с 3 % содержанием углекислого газа.

Пигменты экстрагировали из клеток микроводоросли ацетоном (100 %). Спектры поглощения ацетоновых экстрактов фиксировались на спектрофотометре СФ-2000 в диапазоне от 400 до 800 нм., в кварцевых кюветах с длиной оптического пути 1 см.

Расчет концентраций пигментов проводили по линейным уравнениям со значениями оптической плотности на 470, 646 и 663 нм . Формулы для расчетов концентрации хлорофилла а, хлорофилла b и суммы каротиноидов (мг/л) в ацетоне [1] приведены ниже:

$$\begin{split} C_{\bar{\alpha}\bar{e}a} &= 12, 21 \cdot D_{663} + 2, 81 \cdot D_{646}, \\ C_{\bar{\alpha}\bar{e}b} &= 20, 13 \cdot D_{646} - 5, 03 \cdot D_{663}, \\ C_{\bar{\alpha}\bar{u}}, \bar{e}a\bar{\partial}\bar{e}\,\bar{e}\, = \frac{1000 \cdot D_{470} - 3.27 \cdot C_{\bar{\alpha}\bar{e}a} - 104 \cdot C_{\bar{\alpha}\bar{e}b}}{198} \end{split}$$

Параллельно для анализа спектров поглощения ацетонового экстракта *Dunaliella salina* использовался метод разделения спектра с помощью кривых Гаусса, или GPS (Gauss Peak Spectra) [3].

Известно, что пигментный состав *Dunaliella salina* представлен следующими пигментами: хлорофилл *a*, хлорофилл *b*, β-каротин, лютеин, виолаксантин, неоксантин [6].

На первом этапе использована модель, содержащая феофитин *a*, феофитин *b*, хлорофилл *a*, хлорофилл *b*, каротин, лютеин, неоксантин, виолаксантин.

В предварительных расчетах концентрации виолаксантина и феофитинов стремятся к нулю, поэтому данные пигменты были исключены из модели. Изменены коэффициенты экстинкции для расчета массовой концентрации (мг/л). Для этого коэффициент экстинкции разделен на молекулярный вес конкретного пигмента умноженный на 10⁻³.

Общая модель для аппроксимации спектра поглощения экстракта имеет вид:

$$D(\lambda) = D_{0} + \lambda \cdot k + d \cdot \left(5710000000 \cdot \exp\left(\frac{-\lambda}{12.5}\right) + \exp\left(\frac{-\lambda}{84}\right)\right) + Chl a + Chl b + \beta Car + Lut + Neox$$

$$\left(0.6002 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 661.73}{7.05 \cdot p}\right)^{2}\right) + 0.2091 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 657.85}{12.89 \cdot p}\right)^{2}\right) + 0.1426 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 614.93}{13.99 \cdot p}\right)^{2}\right) + 0.0735 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 575.76}{12.02 \cdot p}\right)^{2}\right) + 0.0324 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 534.04}{17.5 \cdot p}\right)^{2}\right) + 0.0134 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 491.03}{13.04 \cdot p}\right)^{2}\right) + 0.8047 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 430.7}{7.01 \cdot p}\right)^{2}\right) + 0.4768 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 411.14}{10.39 \cdot p}\right)^{2}\right) + 0.0739 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 379.86}{9.06 \cdot p}\right)^{2}\right) + 0.1591 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 325.87}{9.99 \cdot p}\right)^{2}\right)\right)$$

ОБЩАЯ БИОФИЗИКА

БФФХ-2016 53

$$\begin{split} & \left(0.2447 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 644.65}{7.25 \cdot p}\right)^{2}\right) + 0.1018 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 641.98}{14.92 \cdot p}\right)^{2}\right) + 0.0617 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 598.72}{14.48 \cdot p}\right)^{2}\right) + 0.0453 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 556.09}{28.24 \cdot p}\right)^{2}\right) + 0.7076 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 456.81}{11.05 \cdot p}\right)^{2}\right) + 0.2126 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 453.48}{6.55 \cdot p}\right)^{2}\right) + 0.2196 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 428.81}{8.3 \cdot p}\right)^{2}\right) + 0.1267 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 427.33}{35.19 \cdot p}\right)^{2}\right) + 0.0619 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 379.62}{6.73 \cdot p}\right)^{2}\right) + 0.0551 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 575.54}{81.6 \cdot p}\right)^{2}\right) + 0.2271 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 434.33}{12.242 \cdot p}\right)^{2}\right) + 0.4309 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 454.11}{10.67 \cdot p}\right)^{2}\right) + 0.1266 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 436.81}{10.67 \cdot p}\right)^{2}\right) + 0.1226 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 434.53}{12.54 \cdot p}\right)^{2}\right) + 0.0148 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 400.88}{4.9 \cdot p}\right)^{2}\right) + 0.1036 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 432.68}{29.37 \cdot p}\right)^{2}\right) + 0.1226 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 427.02}{8.66 \cdot p}\right)^{2}\right) + 0.0148 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 400.88}{4.9 \cdot p}\right)^{2}\right) + 0.1036 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 432.69}{29.37 \cdot p}\right)^{2}\right) + 0.1846 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 475.29}{8.409 \cdot p}\right)^{2}\right) + 0.1347 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 438.01}{13.79 \cdot p}\right)^{2}\right) + 0.0605 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 420.57}{11.19 \cdot p}\right)^{2}\right) + 0.0605 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 420.57}{11.19 \cdot p}\right)^{2}\right) + 0.1846 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 398.01}{8.409 \cdot p}\right)^{2}\right) + 0.1347 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 383.01}{13.79 \cdot p}\right)^{2}\right) + 0.0605 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 329.21}{26.36 \cdot p}\right)^{2}\right) + 0.0605 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 329.21}{26.36 \cdot p}\right)^{2}\right) + 0.0605 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 329.21}{26.36 \cdot p}\right)^{2}\right) + 0.0605 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 329.21}{26.36 \cdot p}\right)^{2}\right) + 0.0605 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 329.21}{26.36 \cdot p}\right)^{2}\right) + 0.0605 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 329.21}{26.36 \cdot p}\right)^{2}\right) + 0.0605 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 329.21}{26.36 \cdot p}\right)^{2}\right)$$

$$Neox = C_{Neox} \cdot 0.2247 \cdot \left(\begin{array}{c} 0.4336 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 467.73}{6.06 \cdot p}\right)^{2}\right) + 0.4521 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 466.62}{10.74 \cdot p}\right)^{2}\right) + 0.8741 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 438.80}{9.25 \cdot p}\right)^{2}\right) + 0.1219 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 410.22}{46.85 \cdot p}\right)^{2}\right) + 0.2001 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 391.53}{9.06 \cdot p}\right)^{2}\right) + 0.0398 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 369.7}{6.72 \cdot p}\right)^{2}\right) + 0.0293 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 332}{2.98 \cdot p}\right)^{2}\right) + 0.2001 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 369.7}{2.98 \cdot p}\right)^{2}\right) + 0.0293 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 332}{2.98 \cdot p}\right)^{2}\right) + 0.0293 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 332}{2.98 \cdot p}\right)^{2}\right) + 0.0293 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 332}{2.98 \cdot p}\right)^{2}\right) + 0.0293 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 332}{2.98 \cdot p}\right)^{2}\right) + 0.0293 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 332}{2.98 \cdot p}\right)^{2}\right) + 0.0293 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 332}{2.98 \cdot p}\right)^{2}\right) + 0.0293 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 332}{2.98 \cdot p}\right)^{2}\right) + 0.0293 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 332}{2.98 \cdot p}\right)^{2}\right) + 0.0293 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 332}{2.98 \cdot p}\right)^{2}\right) + 0.0293 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 332}{2.98 \cdot p}\right)^{2}\right) + 0.0293 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 332}{2.98 \cdot p}\right)^{2}\right) + 0.0293 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 332}{2.98 \cdot p}\right)^{2}\right) + 0.0293 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 332}{2.98 \cdot p}\right)^{2}\right) + 0.0293 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 332}{2.98 \cdot p}\right)^{2}\right) + 0.0293 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 332}{2.98 \cdot p}\right)^{2}\right) + 0.0293 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 332}{2.98 \cdot p}\right)^{2}\right) + 0.0293 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 332}{2.98 \cdot p}\right)^{2}\right) + 0.0293 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 34}{2.98 \cdot p}\right)^{2}\right) + 0.0293 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 34}{2.98 \cdot p}\right)^{2}\right) + 0.0293 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 34}{2.98 \cdot p}\right)^{2}\right) + 0.0293 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 34}{2.98 \cdot p}\right)^{2}\right) + 0.0293 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 34}{2.98 \cdot p}\right)^{2}\right) + 0.0293 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 34}{2.98 \cdot p}\right)^{2}\right) + 0.0293 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 34}{2.98 \cdot p}\right)^{2}\right) + 0.0293 \cdot \exp\left(-\frac{1}{2} \cdot \left(\frac{\lambda - w - 34}{2.98 \cdot p}\right)^{2}\right) + 0.0293 \cdot \exp\left(-\frac{1$$

где $D(\lambda)$ – оптическая плотность (D);

 λ – длина волны, нм;

D₀ – базовая линия (нулевая линия);

k – наклон базовой линии;

d – коэффициент рассеяния света;

С_{сhl a} – концентрация хлорофилла *a*, мг/л;

С_{Сhl b} – концентрация хлорофилла b, мг/л;

С_{βСаг} – концентрация β-каротина, мг/л;

С_{Lut} – концентрация лютеина, мг/л;

С_{Neox} – концентрация неоксантина, мг/л;

w - отклонение от максимума пика, нм;

р - коэффициент изменения полуширины пика

Аппроксимация проводилась методом доверительных областей с заданными ограничениями и начальными параметрами. Для D_0 (базовой линии) начальное значение равно 0, ограничение от -5 до +5. Для k (коэффициент наклона) начальное значение 0, ограничение от -1 до +1. Для d (коэффициент рассеяния) начальное значение 0, ограничение от -∞ до +∞. Для w (сдвиг максимума) начальное значение 0, ограничение от -5 до +5. Для р (коэффициент изменения полуширины пика) начальное значение 1, ограничение от -∞ до +∞. . Для всех значений концентраций начальное значение 1, ограничение от 0 до +∞.

Для установления связи между методами и согласованности, определяли коэффициент корреляции Спирмена, использовали модифицированный тест Стьюдента, а так же метод Блэнда-Алтмана [7].

Результаты и обсуждение.

В результате анализа 36 спектров поглощения ацетонового экстракта, проведено их разделение (рис. 1). Коэффициент детерминации R² составлял от 0,9994 до 0,9999, что говорит о сильной зависимости модели и спектра. Среди каротиноидов во всех вытяжках преобладает лютеин. Средние отношение лютеин: β-каротин: неоксантин составило - 8,9:3,4:1,0.



Рисунок 1 – Пример разделения спектра поглощения ацетонового экстракта Dunaliella salina методом GPS

Получены парные значения (n = 36) концентраций хлорофиллов и каротиноидов, определенные разными методами (рис. 2). Среднее соотношение пигментов рассчитанных методом GPS составило: хлорофилл a / хлорофилл b = 3,9, хлорофиллы/каротиноиды = 1,4, ксантофиллы / каротин = 3,0. Соотношение пигментов рассчитанных линейными уравнениями составило: хлорофилл a / хлорофилл b = 4,4, хлорофиллы/каротиноиды = 1,3. Соотношения, рассчитанные разными способами, соответствуют литературным данным [6].



Рисунок 2 – Зависимость между результатами полученными методом линейных уравнений и методом кривых Гаусса (GPS)

Коэффициент корреляции Спирмена составил 0,9922 для хлорофилла *a*, 0,9127 для хлорофилла *b*, 0,9956 для суммы каротиноидов, 0,9841 для суммы хлорофиллов, что говорит о высокой связи между значениями концентраций, определенных разными методами.

Сравнение значений с использованием модифицированного теста Стьюдента показало, что данные статистически не различаются для хлорофилла *a* (p=0,5120, p>0,05), суммы каротиноидов (p=0,0933, p>0,05) и

ОБЩАЯ БИОФИЗИКА

ΕΦΦΧ-2016 55

суммы хлорофиллов (p= 0,9631, p>0,05). Исключение составило определение хлорофилла *b* (p=0,0128 p<0,05) различия между концентрациями хлорофилла *b* статистически достоверны, но с низшим уровнем значимости.

Так же был применен метод Блэнда-Алтмана [7] для сравнения результатов измерений полученных различными методами. (рисунок 3) В результате было установлено, что все концентрации хлорофиллов и каротиноидов находятся в пределах двух стандартных отклонений разности концентраций, что говорит о согласованности измерений полученных обоими способами. Средняя разность методов с 95 % доверительным интервалом для хлорофилла *a* составила 0,087 [0,07; 0,10], хлорофилла *b* -0,09 [-0,07; -0,11], суммарных каротиноидов 0,18[0,16; 0,20] и для суммы хлорофиллов 0,01[-0,04; 0,03].



Рисунок 3 – Диаграммы Блэнда-Алтмана, сравнения значений концентраций рассчитанных методом линейных уравнений и методом GPS

Список литературы / References:

1. Wellburn A.R. The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *Journal of plant physiology*, 1994, vol. 144, no. 3, pp. 307-313.

2. Геворгиз Р.Г., Алисиевич А.В., Шматок М.Г. Оценка биомассы Spirulina platensis (Nordst.) Geitl. по оптической плотности культуры. Экол. моря, 2005, № 70, с. 96-106. [Gevorgiz R.G., Alisievich A.V., Shmatok M.G. Estimation of biomass Spirulina platensis (Nordst.) Geitl. on the optical density of the culture. *Ecol. seas.*, 2005, no. 70, pp. 96-106. (In Russ.)]

3. Küpper H., Seibert S., Parameswaran A. Fast, sensitive, and inexpensive alternative to analytical pigment HPLC: quantification of chlorophylls and carotenoids in crude extracts by fitting with gauss peak spectra. *Analytical chemistry*, 2007, vol. 79, no. 20, pp. 7611-7627.

4. Thrane J.E. [et al.] Spectrophotometric Analysis of Pigments: A Critical Assessment of a High-Throughput Method for Analysis of Algal Pigment Mixtures by Spectral Deconvolution. *PloS one*, 2015, vol. 10, no. 9, p. e0137645.

5. Тренкеншу Р.П. Ростовые и фотоэнергетические характеристики морских микроводорослей в плотной культуре: Автореф. дис. ... канд. биол. наук, Красноярск, 1984, 28 с. [Trenkenshu R.P. Growth and photovoltaic characteristics of marine microalgae in a dense culture: Author. Dis. ... Cand . biol . Sciences, Krasnoyarsk, 1984, 28 р. (In Russ.)]

6. Масюк Н.П. Морфология, систематика, экология, географическое распространение рода Dunaliella Teod и перспективы его практического использования. К.: Наукова думка, 1973, 244 с. [Masuk N.P. Morphology, systematics, ecology, geographical distribution of the genus Dunaliella Teod and perspectives of its practical use. Naukova Dumka, 1973, 244 p. (In Russ.)]

7. Bland J.M., Altman D.G. Statistical methods for assessing agreement between two methods of clinical measurement. *The lancet*, 1986, vol. 327, no. 8476, pp. 307-310.

МОРФОГЕНЕЗ ТЕКСТУРЫ АРЕОЛ СТВОРОК ЦЕНТРИЧНЫХ ДИАТОМОВЫХ КАК L-СИСТЕМА. І. РАДИАЛЬНО-ПАРАЛЛЕЛЬНЫЕ И СПИРАЛЬНАЯ ТЕКСТУРЫ

Лях А.М.

ФГБУН «Институт морских биологических исследований РАН» пр. Нахимова, 2, г. Севастополь, 299011, РФ e-mail: antonlyakh@gmail.com

Аннотация. Автор проанализировал модели, описывающие развитие тонкой текстуры створок диатомовых водорослей, и обнаружил, что все они приближенно имитируют топологию ареол. Так как в основе морфогенеза текстуры створок диатомовых лежат механизмы ветвления кремниевых ребер, то автор предложил для моделирования текстуры использовать L-систему. Она отлично описывает развитие дихотомических процессов. Автор описал L-системы для имитации одно и двусторонней радиально-параллельной текстур и двусторонней спиральной текстуры (спирального филлотаксиса) рядов ареол центричных диатомовых.

Ключевые слова: текстура ареол, центричные диатомовые, морфогенез, L-система, радиальнопараллельная текстура, спиральный филлотаксис

MORPHOGENESIS OF AREOLAE PATTERN OF CENTRIC DIATOMS VALVE AS L-SYSTEM. I. RADIAL-PARALLEL AND SPIRAL PATTERNS

Lyakh A.M.

Institute of Marine Biological Research Nakhimov av., 2, Sevastopol, 299011, Russia e-mail: antonlyakh@gmail.com

Abstract. Author has analyzed models, that describe the development of a fine pattern on diatoms valves, and have found that those models approximately simulate areolae topology. Since the branching structures of siliceous ribs form the basis of morphogenesis of diatoms areolae patterns, to model them, author suggests to use L-system. It perfect describes the development of dichotomous processes. Author describes L-systems that simulate one- and double-sided radial-parallel patterns and double-sided spiral pattern (spiral phyllotaxis) of areolae rows on centric diatoms.

Keywords: areolae pattern, centric diatoms, morphogenesis, L-system, radial-parallel pattern, spiral phyllotaxis

Кремниевые панцири диатомовых водорослей покрыты регулярным узором структурных элементов, среди которых наиболее многочисленны и заметны ареолы [1]. Ареолы – это многоугольные, часто шестиугольные многослойные отверстия в стенке панциря. Их основная функция – обеспечение вещественно-энергетического обмена между организмом микроводоросли и окружающей средой [1-3].

Регулярный узор ареол вызывает интерес исследователей. Они пытаются понять, каким образом диатомовые воспроизводят прекрасные формы текстур. Познанию помогают математические модели, которые с разной долей успеха имитируют морфогенез текстур. В данной работе рассматриваются модели некоторых текстур центричных диатомовых с радиально симметричным панцирем.

Гордон и Драм [4] описали модель, в которой тонкие перистые кремниевые образования, наблюдаемые на ранних стадиях морфогенеза створок диатомовых, строятся за счет случайного диффузного оседания кремниевых частиц. Модель плохо имитирует реальные текстуры створок и является первым грубым приближением к описанию процесса. Паркинсон с соавторами [5] ввели в модель диффузного оседания частиц дополнительные характеристики, которые позволяют учитывать физические условия среды, где происходит формирование текстуры. Модель строит структуры подобные радиальной текстуре центричных диатомовых, но не описывает все их разнообразие. Модель разделения фаз [6, 7] предполагает, что аморфный кремнезем оседает на готовом молекулярном шаблоне, который протопласт формирует внутри везикулы отложения кремнезема. Авторы признают, что это численное моделирование процесса, который приблизительно воспроизводит расположение ребер и ареол. Бентли с коллегами [8] имитировали текстуру пеннатных диатомовых при помощи клеточных автоматов. Текстурой центричных диатомовых они не занимались. Лонгет-Хиггинс [9] с помощью конформного отображения регулярного гексагонального узора в круг, математически описал свойства полигональной текстуры ареол центричных диатомовых. Для других типов текстур эти формулы неприменимы. Лях [3] использовал модель радиального расположения ареол для подсчета эффективной поверхности обмена створки. Прочие типы текстур автор не имитировал. Виллис с соавторами [10] описали простую стохастическую модель, которая имитирует перфорацию крибрума ареол диатомовых – текстуру микропор размером 10-100 нм, – но не воспроизводит расположение ареол.

В данной работе я рассматриваю модели, которые позволяют достоверно имитировать геометрически правильное расположение ареол на створке центричных диатомовых.