

ИЗУЧЕНИЕ ВОЗМОЖНОСТЕЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ СУСПЕНЗИИ ШТАММА CHLORELLA VULGARIS BIN В РАЗЛИЧНЫХ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕДАХ

INVESTIGATION OF THE POSSIBILITIES OF CULTIVATING A SUSPENSION OF THE CHLORELLA VULGARIS BIN STRAIN IN VARIOUS NUTRIENT MEDIA

**A. Kopeykin
D. Martynov
N. Lagutina
K. Shakhovskaya**

Summary. An experimental study of the process of growing microalgae of the *Chlorella vulgaris* BIN strain in an experimental photobioreactor on various nutrient media with identical lighting and temperature parameters was carried out. The basis for the manufacture of nutrient media were formulations diluted in distilled water, Guillard F/2 and Tamiya, widely used in the cultivation of fertilizers and recycled agricultural effluents, as a cheap alternative medium. When processing the experimental data obtained by regression analysis methods, a calculation formula was obtained that determines the number of cells of the *Chlorella vulgaris* BIN strain formed during cultivation, taking into account a given range of temperature and illumination parameters of the suspension, values of the hydrogen index, concentrations of chemical compounds of iron, phosphates and potassium, affecting the cultivation of microalgae in suspension. The experimental and calculated data presented in the article can be used as part of measures related to optimizing the operating cycles of modern photobioreactors.

Keywords: chlorella, *Chlorella vulgaris* BIN strain, microalgae, nutrient medium, cultivation, photobioreactor.

Копейкин Алексей Вячеславович
аспирант,

ФГБОУ ВО «ФГБОУ ВО РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева»
qwazy.wasd@gmail.com

Мартынов Дмитрий Юрьевич
к.т.н., старший преподаватель,

ФГБОУ ВО «Академия гражданской защиты МЧС России»
d.martynov@agz.50.mchs.gov.ru

Лагутина Наталия Владимировна
к.т.н., доцент,

ФГБОУ ВО «РГАУ-МСХА имени К.А. Тимирязева»
lagnv@rambler.ru

Шаховская Кира Дмитриевна

Начальник отдела экологического контроля
ФГБУ ЦЖКУ Минобороны РФ
sh.kira2014@yandex.ru

Аннотация. Проведено экспериментальное исследование процесса выращивания микроводорослей штамма *Chlorella vulgaris* BIN в экспериментальном фотобиореакторе на различных питательных средах при идентичных параметрах освещения и температуры. Основой при изготовлении питательных сред явились разбавленные в дистиллированной воде составы, Guillard F/2 и Tamiya, широко применяемые при культивировании удобрений и переработанные сельскохозяйственные стоки, в качестве дешевой альтернативной среды. При обработке полученных экспериментальных данных, методами регрессионного анализа получена расчетная формула, определяющая количество клеток штамма *Chlorella vulgaris* BIN, образующихся в процессе культивирования с учетом заданного диапазона параметров температуры и освещения суспензии, значений водородного показателя, концентраций химических соединений железа, фосфатов и калия, влияющих на культивирование микроводорослей в суспензии. Представленные в статье экспериментальные и расчетные данные могут быть использованы в рамках мероприятий связанных с оптимизацией циклов работы современных фотобиореакторов.

Ключевые слова: хлорелла, штамм *Chlorella vulgaris* BIN, микроводоросль, питательная среда, культивирование, фотобиореактор.

Оценка влияния параметров среды на процесс культивирования микроводорослей — важный аспект исследований, связанных с биотехнологическими и экологическими особенностями фитопланктонных организмов. Культивирование различных микроскопических водорослей родов *Chlorella*, *Spirulina*, *Nannochloropsis* и других является прогрессивным и перспективным направлением биотехнологии.

В частности, полученная в результате культивирования в автоматизированные системы выращивания фи-

топланктонных культур (фотобиореакторах) суспензия микроводорослей штамма *Chlorella vulgaris* BIN широко применяется таких областях как сельское хозяйство, пищевая и косметическая промышленность и экология связанная с альголизацией водоемов. Качественная оценка параметров среды, в которой выращивается культура *Chlorella vulgaris* BIN и ее влияние на скорость роста, а также количество и качество получаемого продукта, позволит технологам верно оценить потребность того или иного штамма фитопланктона в минеральных и органических веществах, оптимальную температуру,

освещенность, pH и остальные условия среды. Такой подход, в свою очередь, позволяет с минимальными финансовыми издержками проектировать и запускать в работу фотобиореакторы используемые для выращивания микроводорослей.

Для проведения первой сессии эксперимента были приготовлены 12 образцов стартовой культуры суспензии, залитые в литровые стеклянные бутылки, содержащие 30 % маточной породы и 70 % дистиллированной воды.

С учетом данных, полученных в проведенных ранее исследованиях, была выбрана оптимальная длительность культивирования — трое суток (72 часа), позволяющая получить максимальный прирост биомассы до наступления последующего цикла стагнации роста биомассы [1–3]. Во всем объеме фотобиореактора в автоматизированном режиме поддерживалась освещенность, в стандартном суточном режиме, 16 часов включенный свет 50–55 КЛюкс и 8 часов выключенный, и температура в диапазоне значений 29–30 °С. Для гарантированного обеспечения растущей культуры углекислым газом выполнялся барботаж атмосферного воздуха около 30 л/час на каждую емкость. Используемые и подготовленные питательные среды представлены в таблице 1.

Таблица 1.

Условия первой сессии эксперимента

Номер на бутылки с суспензией	Питательная среда	Номер на бутылки с суспензией	Питательная среда
1	КРС 16 мл/л	7	F/2 своя, двойная концентрация
2	КРС 8 мл/л	8	Tamiya
3	F/2 пром.	9	Tamiya и витамины
4	F/2 пром., двойная концентрация	10	Tamiya, двойная концентрация
5	F/2 своя	11	F/2 пром. и крахмал
6	F/2 своя, двойная концентрация	12	F/2 пром. и крахмал

Обозначения в таблице 1:

— Среда «КРС» — питательная среда из навоза КРС (среда, представляющая из себя стоки и навоз КРС разбавленные в воде, обеззараженные в процессе 10 минутного кипячения, концентрация в таблице 1 дается на вес сухого вещества стоков и отходов);

— Среда «F/2 пром.» — F/2 промышленная, купленная у производителя (состав представлен в таблице 2) [4];

— Среда «F/2 своя» — F/2 приготовленная самостоятельно из реактивов, приобретённых в розничном магазине (концентрации взяты согласно таблице 1.2);

— Среда «Tamiya и витамины» — Tamiya с добавлением витаминов B6 и B12;

— Среда «F/2 пром. и крахмал» — среда с добавлением крахмала (1 г/л).

Таблица 2.

Состав среды F/2 (в миллиграмм на литр суспензии)

Вещество	Концентрация, мг/л	Вещество	Концентрация, мг/л
NaNO ₃	75	ZnSO ₄ · 7H ₂ O	0,022
NaH ₂ PO ₄ · 2H ₂ O	5	CoCl ₂ · 6H ₂ O	0,010
Na ₂ SiO ₃ · 9H ₂ O	30	MnCl ₂ · 4H ₂ O	0,180
Na ₂ EDTA	4,36	Витамины:	
FeCl ₃ · 6H ₂ O	3,15	Тиамин	0,2
CuSO ₄ · 5H ₂ O	0,010	Биотин	0,001

Первая сессия эксперимента выявила весьма низкую скорость роста количества клеток в средах Tamiya и Tamiya с добавлением витаминов. В этой связи во второй и третьей сессии экспериментальной работы выполненных для уточнения и дополнения результатов первой сессии эксперимента было принято решение отказаться от среды Tamiya. Для проведения второй и третьей сессии эксперимента были приготовлены 12 образцов стартовой культуры суспензии, содержащих 20 % маточной породы и 80 % дистиллированной воды. Временные параметры проведения эксперимента, температурный режим, освещенность, и длительность культивирования не меняли и оставили те же что и в первой сессии эксперимента. Используемые во второй и третьей сессии экспериментальной работы питательные среды представлены в таблицах 3 и 4.

Таблица 3.

Условия второй сессии эксперимента

Номер на бутылки с суспензией	Питательная среда	Номер на бутылки с суспензией	Питательная среда
1	F/2 пром. и крахмал 1,5 г/л	7	F/2 пром.
2	F/2 пром. и крахмал 1 г/л	8	F/2 пром., двойная концентрация
3	F/2 пром. и крахмал 1,5 г/л	9	F/2 пром., двойная концентрация
4	КРС 16 мл/л	10	F/2 своя
5	КРС 32 мл/л	11	F/2 своя, двойная концентрация
6	КРС 16 мл/л и F/2	12	F/2 своя, тройная концентрация

Таблица 4.
Условия третьей сессии эксперимента

Номер на бутылки с суспензией	Питательная среда	Номер на бутылки с суспензией	Питательная среда
1	КРС 16 мл/л	7	F/2, тройная концентрация
2	КРС 16 мл/л	8	F/2, тройная концентрация
3	КРС 16 мл/л	9	F/2, двойная концентрация и КРС 8 мл/л
4	F/2	10	F/2, двойная концентрация
5	F/2 x1	11	F/2, двойная концентрация
6	F/2, тройная концентрация	12	Не использовалась

Далее пробы отбирались из бутылей и перемешивались в пробирке с помощью механической пипетки, и затем анализировались на цифровом микроскопе Bresser LCD MICRO 5MP. Для расчета количества клеток хлореллы в пробах использовалась двухсеточная камера Горяева, в которой идентификация и количественный учет клеток хлореллы проходил при настройках разрешения микроскопа в 125, 500 крат, и при 1000 кратном электронном ZOOM-увеличении. Для расчета использовалась формула [5]:

$$A = H \cdot M \cdot 12499 \quad (1)$$

где: A — количество клеток в 1 мл; H — число разведений суспензии перед расчётом; M — количество клеток штамма *Chlorella vulgaris* BIN полученное при подсчете в двадцати больших квадратах камеры Горяева.

Доверительные границы ϵ , случайной погрешности оценки измеряемой величины при подсчете клеток в камере Горяева рассчитывались согласно ГОСТ Р 8.736-2011, для доверительной вероятности $P=0,95$ по формуле [6]:

$$\epsilon = t \cdot s_{\bar{x}} = t \cdot \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2}{n(n-1)}} \quad (2)$$

где: n — число больших Квадратов камере Горяева в которых проходил подсчет клеток, с учетом подсчета в двадцати больших квадратах камеры Горяева ($n=20$); x_i — число клеток в каждом из больших квадратов камеры Горяева где i имеет значения $i=1, 2, 3, 4, \dots, 20$; t — коэффициент Стьюдента, для доверительной вероятности

$P=0,95$ и $n=20$ равный 2,093; \bar{x} — среднее арифметическое значение результата измерений (значение погрешности подсчета численности клеток, далее в работе будет указано после знака \pm).

Среднее арифметическое значение результата измерений определяется по формуле [4]:

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \sum_{i=1}^n x_i \quad (3)$$

Водородный показатель (рН) жидкости в пробе определялся с помощью индикаторных полосок.

По итогам проведенных трех сессий эксперимента был определен прирост численности клеток, представленный в таблицах 5–8.

Таблица 5.

Динамика численности клеток по дням 1-ой сессии эксперимента

Номер на бутылки	Численность клеток млн/л	
	1-ый день	Итоговое количество
1	7,1±0,2	12,42±0,4
2	7,1±0,2	10,1±0,3
3	7,1±0,2	13,4±0,4
4	7,1±0,2	13,9±0,4
5	7,1±0,2	14,12±0,4
6	7,1±0,2	13,91±0,4
7	7,1±0,2	14,15±0,4
8	7,1±0,2	8,13±0,2
9	7,1±0,2	7,45±0,2
10	7,1±0,2	8,05±0,2
11	7,1±0,2	14,9±0,4
12	7,1±0,2	13,78±0,4

Таблица 6.

Динамика численности клеток по дням 2-ой сессии эксперимента

Номер на бутылки	Численность клеток млн/л		
	1-ый день	2-ый день	Итоговое количество
1	5,3±0,2	6,7±0,2	12,3±0,4
2	5,3±0,2	7,1±0,2	16,3±0,5
3	5,3±0,2	6,9±0,2	14,0±0,4
4	5,3±0,2	9,0±0,3	12,3±0,4

Номер на бутылки	Численность клеток млн/л		
	1-ый день	2-ый день	Итоговое количество
5	5,3±0,2	8,52±0,3	11,4±0,3
6	5,3±0,2	8,0±0,2	12,3±0,4
7	5,3±0,2	8,4±0,2	13,3±0,4
8	5,3±0,2	7,5±0,2	15,4±0,5
9	5,3±0,2	7,6±0,2	15,0±0,4
10	5,3±0,2	9,6±0,3	14,6±0,4
11	5,3±0,2	7,9±0,2	19,4±0,6
12	5,3±0,2	9,5±0,3	18,2±0,5

Таблица 7.

Динамика численности клеток по дням 3-ей сессии эксперимента

Номер на бутылки	Численность клеток млн/л		
	1-ый день	2-ый день	Итоговое количество
1	4,5±0,1	7,4±0,2	12,8±0,4
2	4,5±0,1	6,2±0,2	10,8±0,3
3	4,5±0,1	8,0±0,2	11,7±0,4
4	4,5±0,1	12,3±0,4	18,7±0,6
5	4,5±0,1	14,6±0,4	20,3±0,6
6	4,5±0,1	20,2±0,6	37,6±1,1
7	4,5±0,1	21,0±0,6	38,1±1,1
8	4,5±0,1	24,5±0,7	39,3±1,2
9	4,5±0,1	19,8±0,6	33,6±1,0
10	4,5±0,1	22,0±0,7	39,1±1,2
11	4,5±0,1	21,8±0,7	38,6±1,2

В таблицах 5, 6, 7 можно увидеть значительный разброс скорости роста клеток в питательных средах с изменяющимися концентрациями микроэлементов. Данные таблицы позволяют определить значения концентраций микроэлементов в питательных средах, оптимально влияющих на рост биомассы в суспензии. В процессе лабораторного культивирования *Chlorella Vulgaris* производился контроль химического состава рабочей культуральной жидкости на различных этапах выращивания. Измерения проводились по следующим элементам: калий, фосфор, железо, озон и рН фотометрическим и колориметрическим методами.

Проведение трех последовательных экспериментальных исследований, позволило шаг за шагом, опти-

мизировать и ускорить процесс роста биомассы, при культивировании водоросли *Chlorella Vulgaris*. Соответственно оптимальные параметры химического состава рабочей культуральной жидкости на различных этапах выращивания были получены в третьей сессии эксперимента, в рамках которой были выполнены статистические корреляционные и регрессионные исследования, представленные далее. Результаты наблюдения за химическим составом культуральной среды в процессе культивирования *Chlorella Vulgaris* в третьей сессии экспериментальных исследований представлены в таблице 8.

В рамках требований современной теории статистической обработки данных было определена значимость влияния компонентов химического состава рабочей культуральной жидкости на скорость роста клеток *Chlorella Vulgaris* BIN с помощью коэффициента корреляции Пирсона по формуле [7, 8]:

$$\tilde{r}_{xy} = \frac{\sum ((x_i - \bar{x}) \cdot (y_i - \bar{y}))}{\sqrt{\sum (x_i - \bar{x})^2} \cdot \sqrt{\sum (y_i - \bar{y})^2}} \quad (4)$$

где: n — количество значений изучаемого параметра по которым происходит суммирование (в нашем случае n — число бутылей с исследуемой средой в одной сессии исследований); y_i — значения основного изучаемого параметра (в нашем случае связанного с ростом биомассы хлореллы); \bar{y} — среднеарифметическое значение основного исследуемого параметра; x_i — значения исследуемого параметра, предиктора, влияющего на изменение основного исследуемого параметра; \bar{x} — среднеарифметическое значение предиктора, влияющего на изменение основного исследуемого параметра. С учетом полной взаимной зависимости при установленном одинаковом начальном количестве клеток в сессии во всех бутылках, коэффициент корреляции Пирсона будет максимальным и равен 1 для зависимостей конечного количества клеток, соотношений конечного и начального количества клеток, разницы конечного и начального количества клеток и эти значения будут полностью взаимозависимы. В этой связи в качестве основного независимого исследуемого параметра из трех вышеперечисленных значений необходимо выбрать один основной, наиболее удобный для восприятия параметр, в нашем случае это конечное количество клеток. Для выбора значений параметров которые далее будут учтены при регрессионном анализе в процессе корреляционного анализа с основным параметром (конечным количеством клеток) были сопоставлены параметры концентраций и значений железа, фосфатов, калия, водородного показателя рН в следующих вариациях значений данных параметров: начальное значение; конечное значение; соотношение конечного и начального значений; разница конечного и начального значений; десятичный логарифм начального значения; десятичный логарифм ко-

Таблица 8.

Результаты наблюдения за химическим составом культуральной среды в процессе культивирования *Chlorella Vulgaris* (3-я сессия)

Номер на бутылки	Концентрация стартовая суспензия, мг/л (число для pH)					Концентрация итоговая, суспензия, мг/л (число для pH)				
	Озон	Железо	Фосфаты	Калий	pH	Озон	Железо	Фосфаты	Калий	pH
1	0	0,1	1	3	6,5	0	0,5	0	2,5	7
2	0	0,1	1	3	6,5	0	0,5	0	2,5	7
3	0	0,1	1	3	6,5	0	0,5	0	2,5	7
4	0	1	5	32	7	0	0,3	0	30	8,5
5	0	1	5	32	7	0	0,3	0	30	8,5
6	0	3	15	64	7	0	0,6	0,5	50	9
7	0	3	15	64	7	0	0,5	0,5	50	9
8	0	3	15	64	7	0	0,6	0,5	50	9
9	0	2	11	44	7	0	0,5	0,5	40	7
10	0	2	10	44	7	0	0,4	0,5	35	8,5
11	0	2	10	44	7	0	0,4	0,5	35	8,5

нечного значения; десятичный логарифм соотношения конечного и начального значений. Результаты вычисления коэффициента корреляции Пирсона представлены в таблице 9 (при вычислении десятичного логарифма от числа равного нулю данное нулевое число и все остальные значения в столбце дополнялось единицей для получения значащих сопоставимых значений во всем столбце).

Таблица 9.

Критерий Пирсона для вариаций значений железа, фосфатов, калия, водородного показателя pH

Коэффициент корреляции Пирсона	Вещество			
	Железо	Фосфаты	Калий	Водородный показатель (pH)
Начальное значение	0,947	0,947	0,926	0,810
Конечное значение	0,241	0,967	0,904	0,703
Соотношение конечного и начального значений	-0,820	0,927	-0,492	0,595
Разница конечного и начального значений	-0,952	-0,942	-0,896	0,606
Десятичный логарифм начального значения	0,923	0,943	0,886	0,810
Десятичный логарифм конечного значения	0,233	0,967	0,863	0,699

Коэффициент корреляции Пирсона	Вещество			
	Железо	Фосфаты	Калий	Водородный показатель (pH)
Десятичный логарифм соотношения конечного и начального значений	-0,870	0,929	-0,506	0,578

Из каждого независимого параметра значений железа, фосфатов, калия, водородного показателя pH необходимо выявить только одну вариацию значений с наибольшим коэффициентом корреляции Пирсона (поскольку при сопоставлении вариаций одного параметра вещества в суспензии вторая величина данного параметра будет зависимой от первой с высокой степенью корреляции превышающей 0,9). Выбранные значения коэффициента корреляции Пирсона выделены жирным шрифтом в таблице 1.10, и как можно увидеть наименьшая степень корреляции с конечным числом клеток в суспензии у показателя pH — 0,81 превышает 0,75 и также считается весьма значимой.

Выбранные значения независимых параметров значений железа, фосфатов, калия, водородного показателя с наибольшим коэффициентом корреляции Пирсона, полученным при сопоставлении с конечным числом клеток в суспензии, представлена в таблице 10.

Данные представленные в таблице 10 могут быть использованы для выполнения многофакторного регрес-

Таблица 10. Параметры с наибольшим коэффициентом корреляции Пирсона, полученным при сопоставлении с конечным числом клеток в суспензии для 3-й сессии эксперимента

Клетки, конечное число млн/мл	Железо (разница конечного и начального значений)	Фосфаты, конечное значение, мг/л	Калий, начальное значение, мг/л	pH, начальное значение
12,8	0,4	0	3	6,5
10,8	0,4	0	3	6,5
11,7	0,4	0	3	6,5
18,7	-0,7	0	32	7
20,3	-0,7	0	32	7
37,6	-2,4	0,5	64	7
38,1	-2,5	0,5	64	7
39,3	-2,4	0,5	64	7
33,6	-1,5	0,5	44	7
39,1	-1,6	0,5	44	7
38,6	-1,6	0,5	44	7

сионного анализа в рамках рекомендаций, представленных в литературных источниках [7, 8]. Расчет проводился в Microsoft Excel с использованием подпрограммы анализ данных, регрессия, для уровня надежности 95%. Результат расчета и получения параметров регрессии представлен на рисунке 1.

Результаты многофакторного регрессионного анализа согласно рисунку 2: множественный критерий детерминации близок к 1; значимость критерия Фишера $3,34 \cdot 10^{-7}$, существенно ниже критического табличного параметра 4,53; значения *t*-статистики по модулю больше табличного критерия Стьюдента для заданных параметров (для числа анализируемых значений, $n=11$; числа независимых параметров, $k=4$) $t_{кр} = 2,36$; *P*-значение — существенно меньше базового критерия сравнения 0,05. Все вышеперечисленное позволяет считать, нулевую гипотезу для функции, составленной из расчетных коэффициентов, представленных в таблице 10 достоверной для уровня надежности 95 %. Расчетные коэффициенты, полученные в результате расчета регрессии на основе данных из таблицы 10 при уровне надежности 95 % представлены в таблице 11.

Общая расчетная функция будет иметь вид:

	A	B	C	D	E	F	G
1	ВЫВОД ИТОГОВ						
2							
3	<i>Регрессионная статистика</i>						
4	Множественный R	0,9978					
5	R-квадрат	0,9956					
6	Нормированный R-квадрат	0,9927					
7	Стандартная ошибка	1,0539					
8	Наблюдения	11					
9							
10	<i>Дисперсионный анализ</i>						
11		<i>df</i>	<i>SS</i>	<i>MS</i>	<i>F</i>	<i>Значимость F</i>	<i>F(4,6)_{кр}</i>
12	Регрессия	4	1515,498093	378,8745232	341,1375727	3,34503E-07	4,53
13	Остаток	6	6,66372549	1,110620915			
14	Итого	10	1522,161818				
15							
16		<i>Коэффициенты</i>	<i>Стандартная ошибка</i>	<i>t-статистика</i>	<i>P-Значение</i>		
17	Y-пересечение	-162,2873	32,6123	-4,98	0,0025		
18	Железо	-12,5000	3,0422	-4,11	0,0063		
19	Фосфаты	23,2588	3,8735	6,00	0,0010		
20	Калий	-0,7247	0,1930	-3,76	0,0094		
21	pH	27,8255	5,1728	5,38	0,0017		
22			Число степеней свободы	7	Критерий сравнения		
23			$t_{кр} =$	2,3646	0,05		

Рис. 1. Получение значений регрессии, для величин, представленных в таблице 10

Таблица 11.
Расчетные коэффициенты, полученные в результате расчета регрессии на основе данных из таблицы 10 при уровне надежности 95 %

Параметры	Коэффициенты
Y — пересечение (млн. клеток/мл)	-162,287
X ₁ — Железо (разница конечного и начального значений)	-12,500
X ₂ — Фосфаты конечное значение, мг/л	23,259 л/мг
X ₃ — Калий конечное значение, мг/л	-0,725 л/мг
X ₄ — pH, начальное значение	27,826

$$Y_{\text{клет.}} = -162,29 - 12,5 \cdot X_1 + 23,26 \cdot X_2 - 0,73 \cdot X_3 + 27,83 \cdot X_4 \quad (5)$$

Функциональная зависимость ($Y_{\text{клет.}}$ — определяющая количество клеток в млн/мл), полученная при расчете, позволяет выявлять недостаток микроэлементов в выбранном диапазоне параметров и создавать программы автоматизированного управления на основе представленных в статье данных (при этом в выбранном диапазоне параметров, отрицательное значение Y перекрывается положительным значением, полученным при сложении значений $-12,5 \cdot X_1 + 23,26 \cdot X_2 - 0,73 \cdot X_3 + 27,83 \cdot X_4$).

ЛИТЕРАТУРА

1. Король Т.С., Мартынов Д.Ю., Новиченко А.И., Новиков А.В., Сумарукова О.В., Лапидовский М.В. Исследование возможности использования микроводоросли *Chlorella vulgaris* в технологических процессах обеззараживания и доочистки сточных вод / М: журнал: Водочистка. Водоподготовка. Водоснабжение. №2017/4 С. 24–30. 2017.
2. Мартынов Д.Ю., Барсукова М.В., Манаенков А.О. Метод получения жидких биоудобрений в автоматизированных проточных лотках / М: Сборник статей: Доклады ТСХА, 2021. — С. 189–191.
3. Barsukova M.V., Martynov D.Yu., Novichenko A.I., Lagutina N.V., Evgrafov A.V. Development and symbiosis of chlorella strain in natural and extreme conditions of the aquatic environment / Nashville: Journal of Complementary Medicine Research. 2021. T. 12. № 2. С. 14–20.
4. F/2 — Medium. Cyanosite since 1994. [Электронный ресурс] — URL: <https://www-cyanosite.bio.purdue.edu/media/table/f2.html>
5. ОФС.1.7.2.0008.15. Определение концентрации микробных клеток.
6. ГОСТ Р 8.736-2011. Измерения прямые многократные. Методы обработки результатов измерений. Основные положения.
7. Корреляционно-регрессионный анализ связи показателей коммерческой деятельности с использованием программы Excel : учебное пособие / В.Р. Барраз. — Екатеринбург : ГОУ ВПО «УГТУ–УПИ», 2005. — 102 с.
8. Коломиец Л.В., Поникарова Н.Ю. Метод наименьших квадратов: метод. указания / сост.: Л.В. Коломиец, Н.Ю. Поникарова. — Самара: Изд-во Самарского университета, 2017. — 32 с.

© Копейкин Алексей Вячеславович (qwazy.wasd@gmail.com); Мартынов Дмитрий Юрьевич (d.martynov@agz.50.mchs.gov.ru);
Лагутина Наталия Владимировна (lagnv@rambler.ru); Шаховская Кира Дмитриевна (sh.kira2014@yandex.ru)
Журнал «Современная наука: актуальные проблемы теории и практики»