

## Использование спектрофотометрии для изучения вспомогательных пигментов фотосинтезирующих микроорганизмов

© 2020. З. Б. Намсараев, к. б. н., в. н. с., Я. Э. Сергеева, к. х. н., с. н. с.,  
Научно-исследовательский центр «Курчатовский институт»,  
123182, Россия, г. Москва, пл. Академика Курчатова, д. 1,  
e-mail: zorigto@gmail.com

Фотосинтезирующие микроорганизмы обладают большим разнообразием вспомогательных пигментов, наиболее характерными из которых являются спириллоксантин, окенон, сфероиден у анаэробных фототрофных бактерий, фикоэритрин и фикоцианин у цианобактерий и красных водорослей, хлорофиллы *b* и *c*, а также разнообразные ксантофиллы эукариотических микроводорослей. Спектрофотометрический анализ вспомогательных пигментов позволяет получать важную информацию при проведении экологических исследований, таких как описание состава сообществ с помощью хемотаксономии, установление физиологического статуса фотосинтезирующих микроорганизмов, прогнозирование и оценка массового развития фототрофов в водоёмах. Тем не менее, при проведении исследований возможны ошибки при проведении расчётов, которые могут приводить к несоответствию реальных и расчётных данных в 10 раз. В статье анализируются основные ошибки, связанные с использованием спектрофотометрического определения вспомогательных пигментов, а также приводятся формулы и коэффициенты поглощения для широкого спектра вспомогательных пигментов, необходимые для проведения расчётов.

**Ключевые слова:** каротиноиды, фикобилипротеины, пигменты, фотосинтезирующие микроорганизмы, спектрофотометрия.

## The use of spectrophotometry to study secondary pigments of photosynthetic microorganisms

© 2020. Z. B. Namsaraev ORCID: 0000-0002-9701-5721  
Ya. E. Sergeeva ORCID: 0000-0002-6190-8800  
National Research Center “Kurchatov Institute”,  
1, Ploshchad Akademika Kurchatova, Moscow, Russia, 123182,  
e-mail: zorigto@gmail.com

Photosynthetic microorganisms have a wide variety of secondary pigments, the most characteristic of which are spirilloxanthin, okenone, spheroidene in anoxygenic phototrophic bacteria, phycoerythrin and phycocyanin in cyanobacteria and red algae, chlorophylls *b* and *c*, as well as a variety of eukaryotic xanthophylls. Spectrophotometric analysis of secondary pigments provides important information in environmental studies, such as describing the composition of communities using chemotaxonomy, establishing the physiological status of photosynthetic microorganisms, predicting and assessing the mass development of phototrophs in water bodies. However, when conducting research, there may be errors in the calculations, which can lead to a mismatch of real and calculated data by 10 times. Such errors can be caused by the low availability of information on the absorption coefficients of most secondary pigments, the use of absorption coefficients obtained for different volumes of the solution, incorrect calculations, ignorance of the characteristic absorption spectra of high-value pigments, which leads to the acquisition of fake pigments made from cheaper pigments and inorganic fillers, etc. The purpose of this article is to present a systematic approach to the use of spectrophotometry and to review the literature on secondary pigments of photosynthetic microorganisms with in order to solve various environmental problems, for example, to describe the taxonomy and functional diversity of phytoplankton using secondary pigments. The article analyzes the main errors associated with the use of spectrophotometric determination of secondary pigments, as well as the formulas necessary for calculations and absorption coefficients for the following secondary pigments: isorenieratene,  $\alpha$ -carotene,  $\beta$ -carotene,  $\gamma$ -carotene, astaxanthin, violaxanthin, diadinoxanthin, diatoxanthin, zeaxanthin, lutein, neoxanthin, okenone, peridinine, spirilloxanthin, spheroidene, fucoxanthin.

**Keywords:** carotenoids, phycobiliproteins, pigments, photosynthetic microorganisms, spectrophotometry.

Вспомогательные пигменты (ВП) (каротиноиды, фикобилипротеины и ряд хлорофиллов), как правило, выполняют светособирающую или светозащитную функцию в клетках микроорганизмов. Фотосинтезирующие микроорганизмы (ФМ) обладают большим разнообразием вспомогательных пигментов, наиболее характерными из которых являются спириллоксантин, окенон, сфероиден у аноксигенных фототрофных бактерий, фикоэритрин и фикоцианин у цианобактерий и красных водорослей, хлорофиллы *b* и *c*, а также разнообразные ксантофиллы эукариотических микроводорослей [1–3].

Идентификация индивидуальных пигментов, а также определение их концентрации играют важную роль в экологических исследованиях, например, при проведении дистанционного зондирования Земли. Основным анализируемым видом пигментов является хлорофилл *a*. Однако в результате ряда исследований было показано, что анализ концентрации хлорофилла *a* желательнее дополнять анализом ВП. Например, использование «хлорофилл/каротиноидного индекса» позволяет более точно оценивать фотосинтетическую активность вечнозелёных растений, что приводит к повышению точности моделей оценки баланса углерода в лесных экосистемах [4]. Анализ содержания фикоцианина в воде позволяет проводить более точную оценку количества цианобактерий в водоёмах, что имеет важное значение с точки зрения предсказания возможных эффектов массового развития потенциально токсичных цианобактерий [5]. Также изучение качественного состава ВП в природных образцах позволяет выявлять доминирующие в составе сообществ типы ФМ и проводить предварительную оценку их физиологического состояния [6].

Кроме экологических исследований, анализ ВП имеет важное прикладное значение в палеобиологии, где он применяется в качестве биомаркеров массового развития ФМ в древности [7]. Также некоторые ВП имеют коммерческое значение и используются как антиоксиданты, пищевые красители, пищевые добавки и т. д. По состоянию на 2014 г. рынок каротиноидов оценивался в 1,4 млрд долларов США, при этом стоимость синтетических каротиноидов составляла от 250 до 2000 долларов/кг, а стоимость природных каротиноидов от 350 до 7500 долларов/кг [8]. Среди фикобилипротеинов одним из основных коммерческих продуктов является

фикоцианин, стоимость которого оценивается примерно в 500 долларов/кг [9]. В любом из вышеприведённых примеров определение точного содержания пигмента в анализируемом образце имеет важнейшее значение. Это может быть как проведение наземной калибровки данных, полученных с использованием спутниковых методов анализа, так и определение качества и подлинности продуктов, содержащих ВП.

Хроматографические методы анализа обладают наибольшей точностью качественного и количественного состава ВП. Тем не менее, спектрофотометрический анализ является эффективным и более доступным методом исследования [10]. Одной из важных проблем, встающих перед исследователями (в отсутствие индивидуальных стандартов пигментов), является малая доступность информации о точных значениях коэффициентов поглощения большинства ВП. Например, в широко распространённых справочниках часто приводится информация о длинах волн максимумов поглощения ВП, но не приводится информация о коэффициентах поглощения [11]. Это приводит к тому, что при количественных расчётах исследователи вынуждены использовать коэффициенты поглощения других пигментов (например,  $\beta$ -каротина) вместо величин истинных коэффициентов, соответствующих идентифицированным в растворе пигментам. Также, важным источником ошибки при количественном определении содержания пигмента может являться использование коэффициентов поглощения, полученных для разных объёмов раствора (выраженных к различным объёмам – 100 мл или 1 л), что приведёт к несоответствию реальных и расчётных данных в 10 раз. Кроме того, встречаются ошибки в расчётах, связанные с некорректным использованием формулы Бугера-Ламберта-Бэра или незнание характерных спектров поглощения пигментов, обладающих высокой стоимостью, что приводит к приобретению фальсифицированных реактивов, изготовленных из более дешёвых пигментов и неорганических наполнителей и т. д.

Целью данной статьи является представление систематизированного подхода к использованию спектрофотометрии и обобщение литературных данных о ВП (каротиноидов и фикобилипротеинов) для решения различных экологических задач, например, для описания таксономии и функционального разнообразия фитопланктона с использованием ВП-биомаркеров.

Каротиноиды

В настоящее время в природе обнаружено более 750 каротиноидов, из которых примерно для тридцати показана функциональная роль в фотосинтетических светособирающих комплексах [3]. Каротиноиды, состоящие только из атомов углерода и водорода (например,  $\beta$ -каротин, ликопин), известны как каротины; оксигенированные производные называются ксантофиллами. Обычно кислородсодержащими заместителями являются гидроксид-, кето-, эпокси- и альдегидные группы. Каротиноиды могут быть ациклическими (например, ликопен), моноциклическими (например,  $\gamma$ -каротин) или дициклическими (например,  $\alpha$ - и  $\beta$ -каротин). В природе каротиноиды существуют в основном в более стабильной полностью *транс*- (или E) форме, но встречаются небольшие количества *цис*- (или Z) изомеров.

При анализе спектра поглощения каротиноидов следует принимать во внимание такие характеристики, как положение максимумов поглощения (длина/ы волны максимума/ов поглощения ( $\lambda_{max}$ )) и профиль самого спектра. Полиеновая структура каротиноидов обуславливает интенсивное поглощение в интервале от 400 до 500 нм, что соответствует характерной для этих соединений окраске: жёлтой, оранжевой, красной. Для большинства каротиноидов характерно наличие трёх максимумов поглощения (рис.): наиболее коротковолновый максимум обозначается

порядковым номером I, центральный имеет номер II, и длинноволновый максимум имеет номер III. Помимо данных о максимумах поглощения, часто приводятся данные о соотношении (выраженном в %) интенсивности (высот) третьего максимума поглощения ко второму (III/II, %) (рис.), принимая за базовую линию минимум оптической плотности между этими двумя максимумами поглощения. Величина данного показателя также зависит от полярности растворителя, используемого для снятия спектра.

Для расчёта концентрации индивидуального пигмента (в мкг/мл) в экстракте используется формула с учётом закона Бугера-Ламберта-Бэра:

$$c = \frac{A \cdot 10^4}{E_{1cm}^{1\%} \cdot l},$$

где A – оптическая плотность самого большого характерного максимума поглощения (оптическая плотность раствора, как правило, должна находиться в диапазоне между 0,2 и 0,8),  $E_{1cm}^{1\%}$  – специфический абсорбционный коэффициент 1% (масса/объём) раствора индивидуального пигмента в кювете толщиной 1 см, выраженный в 100 мл/(г · см), l – толщина кюветы в см. Значения коэффициента  $E_{1cm}^{1\%}$  для основных вспомогательных пигментов приведены в таблице. Необходимо учитывать, что в отдельных случаях коэффициент  $E_{1cm}^{1\%}$  приводится в расчёте не на 100 мл, а на 1 л. В таком случае величина коэффициен-

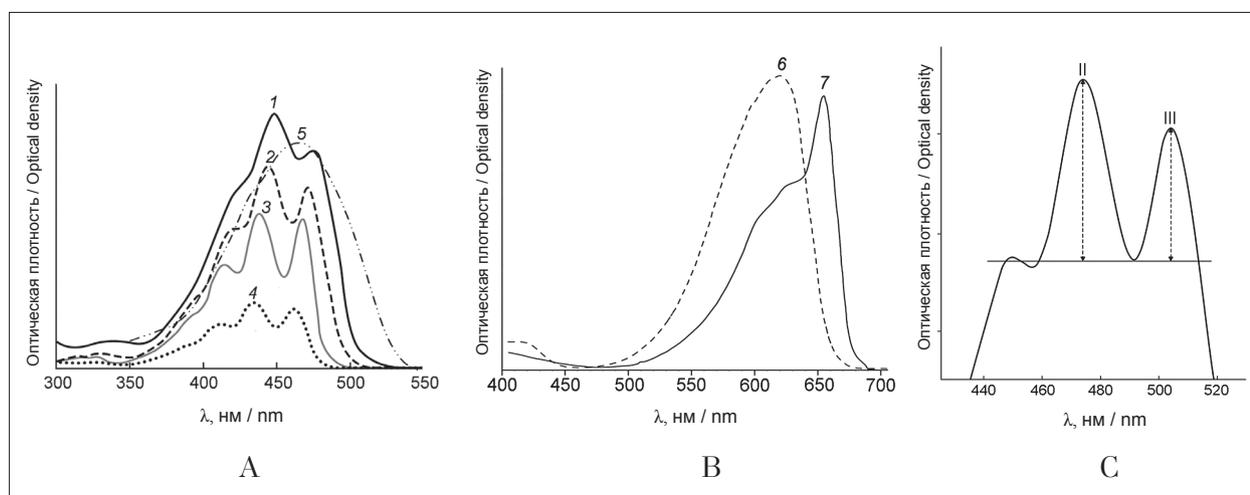


Рис. Спектры поглощения пигментов: индивидуальных каротиноидов (А) и фикобилипротеинов (В): 1 –  $\beta$ -каротин; 2 – лютеин; 3 – виолаксантин; 4 – неоксантин; 5 – астаксантин; 6 – С-фикоцианин; 7 – С-аллофикоцианин. Определение величин интенсивностей (высот) второго (II) и третьего (III) максимумов поглощения (С) для вычисления соотношения III/II (%)

Fig. Absorption spectra of pigments: individual carotenoids (A) and phycobiliproteins (B): 1 –  $\beta$ -carotene; 2 – lutein; 3 – violaxanthin; 4 – neoxanthin; 5 – astaxanthin; 6 – C-phyco cyanin; 7 – C-allophycocyanin. Determination of intensities (heights) of the second (II) and third (III) absorption maxima (C) for the calculation the ratio III/II (%)

Таблица / Table

Максимумы поглощения и коэффициенты экстинкции каротиноидов фотосинтезирующих микроорганизмов / Absorption maxima and extinction coefficients of carotenoids of photosynthetic microorganisms

Пигмент (молекулярная масса) Pigment (MW)	Растворитель Solvent	$\lambda_{\text{макс}}$ (нм) / $\lambda_{\text{max}}$ (nm)			III/II, %	$E_{1\text{cm}}^{1\%}$ 100 мл/(г·см) 100 mL/(g·cm)	Ссылка Reference
		I	II	III			
Каротины / Carotenes							
Изорениратин Isorenieratene (528,81)	бензол / benzene	443	465	493	—*	2330	[12]
	петролейный эфир petroleum ether	425	450	477	—	2080	[13]
<i>a</i> -каротин <i>a</i> -carotene (536,87)	ацетон / acetone	424	448	476	55	—	[13]
	гексан / hexane	422	445	473	55	2710	
	хлороформ chloroform	433	457	484	—	—	
<i>b</i> -каротин <i>b</i> -carotene (536,87)	ацетон / acetone	(426)**	454	480	21	2500	[13]
	гексан / hexane	(422)	450	478	36	2592	
	хлороформ chloroform	435	461	485	—	2400	
	этанол / ethanol	(428)	451	480	27	2620	
<i>g</i> -каротин <i>g</i> -carotene (536,87)	ацетон / acetone	424	448	476	55	—	[13]
	гексан / hexane	422	445	473	55	2710	
	хлороформ chloroform	433	457	484	—	—	
Ксантофиллы / Xanthophylls							
Астаксантин Astaxanthin (596,84)	ацетон / acetone	нет по	475– 480	нет по	—	—	[13]
	гексан / hexane		466– 468		—	2100	
	хлороформ chloroform		485		—	—	
Виолаксантин Violaxanthin (600,87)	ацетон / acetone	415	438	467	79	—	[13]
	гексан / hexane	нет по	443	472	—	—	
	хлороформ chloroform	423	452	482	—	—	
	этанол / ethanol	417	440	469	93	2550	
Диадиноксантин Diadinoxanthin (582,85)	ацетон / acetone	(428)	449	479	75	2240	[14]
	гексан / hexane	(421)	445	475	63	—	
	этанол / ethanol	(424)	445	476	64	—	
Диатоксантин Diatoxanthin (566,86)	ацетон / acetone	430	453	480	42	2720	[14]
	гексан / hexane	(426)	451	480	31	—	
	этанол / ethanol	(428)	452	478	—	—	
Зеаксантин Zeaxanthin (568,87)	ацетон / acetone	(428)	454	481	33	—	[15]
	гексан / hexane	(424)	450	478	46	2340	
	хлороформ chloroform	429	462	494	—	—	
	этанол / ethanol	(428)	450	478	26	—	
Лютеин Lutein (568,87)	ацетон / acetone	425	447	476	67	—	[13]
	гексан / hexane	421	444	473	76	—	
	этанол / ethanol	422	445	474	62	2550	
Неоксантин Neoxanthin (600,87)	ацетон / acetone	416	437	466	84	—	[13]
	гексан / hexane	416	440	469	94	—	
	этанол / ethanol	418	442	471	91	2380	

Пигмент (молекулярная масса) Pigment (MW)	Растворитель Solvent	$\lambda_{\text{макс}}$ (нм) / $\lambda_{\text{max}}$ (nm)			III/II, %	$E_{1\text{cm}}^{1\%}$ 100 мл/(г · см) 100 mL/(g · cm)	Ссылка Reference
		I	II	III			
Окенон Okenone (578,88)	ацетон / acetone	(465)	487	518	–	–	[16]
	петролейный эфир petroleum ether	(460)	484	516	13	2320	[17]
Перидинин Peridinine (630,81)	ацетон / acetone	–	465	–	–	1340	[14]
	гексан / hexane	(430)	454	483	74	–	
	этанол / ethanol	–	475	–	–	1350	
Спириллоксантин Spirilloxanthin (596,94)	ацетон / acetone	470	497	530	–	–	[12]
	гексан / hexane	463	492	526	–	2540	[18]
	хлороформ chloroform	475	505	543	–	–	[12]
Сфероиден Spheroidene (568,91)	метанол methanol	427	452	482	78,5	2765	[16]
Фукоксантин Fucoxanthin (658,91)	ацетон / acetone	(420)	444	467	5	1660	[13]
	гексан / hexane	(428)	446	475	40	–	
	хлороформ chloroform	Нет No	460	(478)	–	–	

Примечание / Note: \* – данные не приведены/data not shown; \*\* ( $\lambda$ ) длина волны неявно выраженного плеча / wavelength of the implicit tshoulder.

та уменьшается в 10 раз, что обязательно нужно принимать во внимание во время расчётов, так как это может привести к ошибке измерений на один порядок.

В случае экстракции суммарных пигментов из биомассы цианобактерий и микроводорослей уравнение, полученное на основании закона Бугера-Ламберта-Бэра, становится более сложным, так как в растворе помимо каротиноидов содержатся также и хлорофиллы. Для расчёта можно воспользоваться формулами (2–10) для различных растворителей из работы [19], где  $c_a$  – концентрация хлорофилла  $a$  в мкг/мл экстракта,  $c_b$  – концентрация хлорофилла  $b$ ,  $c_{(x+c)}$  – концентрация суммарных каротиноидов,  $A_\lambda$  – оптическая плотность при соответствующей длине волны ( $\lambda$ ).

Ацетон (чистый):

$$c_a = 11,24 A_{661,6} - 2,04 A_{664,8}, \quad (2)$$

$$c_b = 20,13 A_{664,8} - 4,19 A_{661,6}, \quad (3)$$

$$c_{(x+c)} = \frac{1000 A_{470} - 1,90 c_a - 63,14 c_b}{214}. \quad (4)$$

Диэтиловый эфир (чистый):

$$c_a = 10,05 A_{660,6} - 0,97 A_{642,2}, \quad (5)$$

$$c_b = 16,36 A_{642,2} - 2,43 A_{660,6}, \quad (6)$$

$$c_{(x+c)} = \frac{1000 A_{470} - 1,43 c_a - 35,87 c_b}{205}. \quad (7)$$

Метанол (чистый):

$$c_a = 16,72 A_{665,2} - 9,16 A_{652,4}, \quad (8)$$

$$c_b = 31,09 A_{652,4} - 15,28 A_{665,2}, \quad (9)$$

$$c_{(x+c)} = \frac{1000 A_{470} - 1,63 c_a - 104,96 c_b}{221}. \quad (10)$$

### Фикобилипротеины

Цианобактерии и красные водоросли поглощают свет, главным образом, в синей и красной области видимого спектра ввиду наличия из основных пигментов только хлорофилла  $a$ . Для компенсации и оптимизации сбора световой энергии в тилакоидной мембране данных организмов собираются супрамолекулярные комплексы, известные как фикобилисомы, способные поглощать свет в диапазоне 500–660 нм. Каждая фикобилисома состоит из окрашенных белков, называемых фикобилипротеинами, среди которых выделяется три класса: аллофикоцианин (зелёно-голубого цвета), фикоцианин (синего цвета), фикоэритрин (красного цвета) [20]. При этом величины максимумов поглощения фикобилипротеинов могут различаться в зависимости от организма, из которого они выделены [21]. Фикобилипротеины гидрофильны по своей природе и для их выделения традиционно

используется фосфатный буфер. При этом на положение максимумов поглощения фикобилипротеинов влияет величина рН буферного раствора, поэтому при определении удельного коэффициента экстинкции для фикобилипротеинов используют растворы с заданной величиной рН.

Следует отметить, что коэффициенты экстинкции могут различаться в различных работах. Так, при изучении фикобилипротеинов красной водоросли *Furcellaria lumbicalis* [22] использовали аналитические стандарты R-фикоэритрина (максимум поглощения 566 нм, молекулярная масса 240 кДа), С-фикоцианина (620 нм, 30 кДа) и аллофикоцианина (652 нм, 105 кДа) и молярные коэффициенты экстинкции  $2,00 \cdot 10^6$ ,  $1,85 \cdot 10^6$  и  $0,7 \cdot 10^6$  л/(М · см соответственно). В работе [23] коэффициент экстинкции для фикобилипротеинов, выделенных из *Arthrospira platensis* (устаревшее название *Spirulina platensis*), составил 73 и 58 для фикоцианина и аллофикоцианина соответственно.

Наиболее часто для расчёта содержания (мг/мл) фикоцианина (PC), аллофикоцианина (APC), фикоэритрина (PE) используют формулы (11–13), предложенные в работе [13]:

$$PC = \frac{A_{620} - 0,474 A_{650}}{5,34}, \quad (11)$$

$$APC = \frac{A_{650} - 0,208 A_{620}}{5,09}, \quad (12)$$

$$PE = \frac{A_{560} - 2,41PC - 0,849APC}{9,62}. \quad (13)$$

### Заключение

Таким образом, при правильном использовании спектрофотометрические методы анализа, описанные в статье, позволяют получать важную информацию о количественном и качественном составе ВП, что имеет значение для экологических исследований, таких как описание сообществ с помощью хемотаксономии ВП, установление физиологического статуса фотосинтезирующих организмов, прогнозирование и оценка массового развития фототрофов в водоёмах и т. д. [24, 25].

*Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ № 17-29-05103. Статья опубликована при финансовой поддержке гранта РФФИ № 19-04-20031.*

### References

1. Takaichi S. Carotenoids and carotenogenesis in anoxygenic photosynthetic bacteria // The photochemistry of carotenoids. Dordrecht: Springer, 1999. P. 39–69. doi: 10.1007/0-306-48209-6\_3
2. Takaichi S. Distribution and biosynthesis of carotenoids // The purple phototrophic bacteria. Dordrecht: Springer, 2009. P. 97–117. doi: 10.1007/978-1-4020-8815-5\_6
3. Takaichi S. Carotenoids in algae: distributions, biosyntheses and functions // Marine drugs. 2011. V. 9. No. 6. P. 1101–1118. doi: 10.3390/md9061101
4. Gamon J.A., Huemmrich K.F., Wong Ch.Y.S., Ensminger I., Garrity S., Hollinger D.Y., Noormets A., Peñuelas J. A remotely sensed pigment index reveals photosynthetic phenology in evergreen conifers // Proceedings of the National Academy of Sciences. 2016. V. 113. No. 46. P. 13087–13092. doi: 10.1073/pnas.1606162113
5. Varunan T., Shanmugam P. An optical tool for quantitative assessment of phycocyanin pigment concentration in cyanobacterial blooms within inland and marine environments // Journal of Great Lakes Research. 2017. V. 43. No. 1. P. 32–49. doi: 10.1016/j.jglr.2016.11.001
6. Krishnaveni N., Shenbaga Devi A., Santhanam P. A method of analysis of pigments in phytoplankton // Basic and applied phytoplankton biology / Ed. P. Santhanametal. Springer Nature Singapore Pte Ltd, 2019. P. 221–227. doi: 10.1007/978-981-10-7938-2\_11
7. Meyer K.M., Macalady J.L., Fulton J.M., Kump L.R., Schaperdoth I., Freeman K.H. Carotenoid biomarkers as an imperfect reflection of the anoxygenic phototrophic community in meromictic Fayetteville Green Lake // Geobiology. 2011. V. 9. No. 4. P. 321–329. doi: 10.1111/j.1472-4669.2011.00285.x
8. Carotenoids market [Internet resource] <https://www.deinove.com/en/profile/strategy-and-markets/carotenoids-market> (Accessed: 11.11.2019).
9. Chaiklahan R., Chirasuwan N., Loha V., Tia S., Bunnag B. Stepwise extraction of high-value chemicals from *Arthrospira* (*Spirulina*) and an economic feasibility study // Biotechnology Reports. 2018. V. 20. P. e00280. doi: 10.1016/j.btre.2018.e00280
10. Namsaraev Z.B. Application of extinction coefficients for quantification of chlorophylls and bacteriochlorophylls // Microbiology. 2009. V. 78. No. 6. P. 794–797. doi: 10.1134/S0026261709060174
11. Dawson R., Elliot D., Elliot W., Jones C. Handbook of Biochemist. Moskva: Mir, 1991. 554 p. (in Russian).
12. Foppen F.H. Tables for the identification of carotenoid pigments // Chromatogr. Rev. 1971. V. 14. No. 3. P. 133–298. doi: 10.1016/0009-5907(71)80012-1
13. Britton G., Liaaen-Jensen S., Pfander H. Carotenoids: Handbook. Basel: Birkhauser Verlag, 2004. 645 p.
14. Roy S., Llewellyn C.A., Egeland E.S., Johnsen G. Phytoplankton pigments: characterization, chemotaxonomy and applications in oceanography. Cambridge: Cambridge University Press, 2011. 845 p.

15. Jeffrey S.W., Mantoura R.F.C., Bjarnland T. Data for the identification of 47 key phytoplankton pigments // *Phytoplankton pigments in oceanography: guidelines to modern methods* / Ed. S.W. Jeffrey, R.F.C. Mantoura, S.W. Wright. Paris: UNESCO Publishing, 1997. P. 449–559.
16. Liaaen-Jensen S. The constitution of some bacterial carotenoids and their bearing on biosynthetic problems. Trondheim: Kgl. Norske Vit. Selsk. Skrifter, 1962. 199 p.
17. Takaichi S., Shimada K. Characterization of carotenoids in photosynthetic bacteria // *Methods Enzymol.* 1992. V. 213. P. 374–385. doi: 10.1016/0076-6879(92)13139-0
18. Zapata M., Jeffrey S., Wright S., Rodriguez F., Garrido J.L., Clementson L. Photosynthetic pigments in 37 species (65 strains) of Haptophyta: implications for oceanography and chemotaxonomy // *Mar Ecol. Prog. Ser.* 2004. V. 270. P. 83–102. doi: 10.3354/meps270083
19. Lichtenthaler H.K. Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes // *Methods Enzymol.* 1987. V. 148. P. 350–382. doi: 10.1016/0076-6879(87)48036-1
20. Stadnichuk I.N., Krasilnikov P.M., Zlenko D.V. Cyanobacterial phycobilisomes and phycobiliproteins // *Microbiology.* 2015. V. 84. No. 2. P. 101–111. doi: 10.1134/S0026261715020150
21. Zhao K.-H., Porra R.J., Scheer H. Phycobiliproteins // *Phytoplankton pigments: characterization, chemotaxonomy and applications in oceanography* / Ed. R. Suzanne. Cambridge: Cambridge University Press, 2011. P. 375–411.
22. Saluri M., Kaldmäe M., Tuvikene R. Extraction and quantification of phycobiliproteins from the red alga *Furcellaria lumbricalis* // *Algal Research.* 2019. V. 37. P. 115–123. doi: 10.1016/j.algal.2018.11.013
23. Boussiba S., Richmond A.E. Isolation and characterization of phycocyanins from the blue-green alga *Spirulina platensis* // *Arch. Microbiol.* 1979. V. 120. P. 155–159. doi: 10.1007/BF00409102
24. Saltan N.V., Sviatkovskaya E.A., Shlapak E.P., Trostenyuk N.N., Gontar O.B. Changes in the photosynthetic activity of wood plants under a coal terminal environment // *Theoretical and Applied Ecology.* 2019. No. 2. P. 68–74. doi: 10.25750/1995-4301-2019-2-068-074
25. Tovstik E.V., Adamovich T.A., Rutman V.V., Kantor G.Ya., Ashikhmina T.Ya. Identification of the thickets of *Heracleum sosnowskyi* using Earth remote sensing data // *Theoretical and Applied Ecology.* 2018. No. 2. P. 35–37. doi: 10.25750/1995-4301-2018-2-035-037