

ИЗМЕНЕНИЕ СОДЕРЖАНИЯ С-ФИКОЦИАНИНА В БИОМАССЕ *SPIRULINA PLATENSIS* В ДВУХСТУПЕНЧАТОМ ЛЮМИНОСТАТЕ

Шабанова А.В.¹, Лелеков А.С.²

¹Севастопольский государственный университет
ул. Университетская, 33, г. Севастополь, 299053, РФ
e-mail: a.schabanowa@yandex.ru

²Институт морских биологических исследований им. А.О.Ковалевского
пр. Нахимова, 2, г. Севастополь, 299011, РФ
e-mail: a.lelekov @yandex.ru

Аннотация. Проведено исследование содержания С-фикоцианина в клетках *S. platensis* в двухступенчатом люминостате. Двухступенчатый люминостат представлял собой систему культивирования, состоящей из двух секций расположенных друг за другом. Благодаря стабилизации плотности культуры в первой секции количество световой энергии, попадающей во вторую секцию неизменялось. Показано, что содержание С-фикоцианина во второй секции было в 16 раз больше чем в первой. При организации полупроточного режима культивирования во второй секции при 10 % обмене можно стабилизировать плотность культуры на уровне около 1 г СВ/л. В таких условиях, возможно получить 100 мг биомассы или 8 мг С-фикоцианина с литра культуры в сутки.

Ключевые слова: спектр лампы, спектр пропускания культуры, полупроточный режим культивирования.

THE CHANGE OF C-PHYCOCYANIN CONTENT IN THE *SPIRULINA PLATENSIS* BIOMASS IN A TWO-STEP LUMINOSTAT

Shabanova A.V.¹, Lelekov A.S.²

¹Sevastopol State University
Universitetskaya St., 33, Sevastopol, 299053, Russia
e-mail: a.schabanowa@yandex.ru

²Institute of Marine Biological Research. A. O. Kovalevsky
Nachimov av., 2, Sevastopol, 299011, Russia
e-mail: a.lelekov @yandex.ru

Abstract. A study of the C-phycoyanin content in *S. platensis* cells in two-stage luminostat was conducted. Two-stage luminostat was a cultivation system consisting of two sections arranged one behind the other. Due to the stabilization of the culture density in the first section the amount of light energy falling in the second section was same. It is shown that the C-phycoyanin content in the second section was 16 times more than in the first. In the organization semicontinuous cultivation mode in the second section it is possible to stabilize the culture density at the level of about 1 g DW/l. Under such conditions, we can obtain 100 mg of biomass or 8 mg of C-phycoyanin per liter of culture per day.

Key words: the spectrum of the lamp, the transmission spectrum of culture, semicontinuous cultivation mode.

Биомасса цианобактерии *Spirulina (Arthrospira) platensis* является источником синего пигмента С-фикоцианина, используемого в качестве пищевого красителя, а также в косметической промышленности [1]. Клетки спирулины способны накапливать С-фикоцианин, его содержание определяется, в первую очередь, световыми условиями и концентрацией минерального азота в питательной среде. В литературе приведено множество данных, указывающих на то, что при увеличении концентрации минерального азота содержание С-фикоцианина и других фикобилипротеинов увеличивается [2]. С другой стороны, на содержание С-фикоцианина влияет не только количество световой энергии, приходящееся на единицу биомассы, но и спектральный состав света, т. к. максимум поглощения данного пигмента приходится примерно на 620 нм [3]. Таким образом, для максимизации содержания С-фикоцианина необходимо поддерживать оптимальную концентрацию нитратного азота в среде, а также обеспечить клетки световой энергией заданного спектрального состава. Если мы будем облучать культуру преимущественно на длине волны 620 нм, то клетки микроводорослей будут адаптироваться, изменяя свой биохимический состав: содержание каротиноидов и хлорофилла а будет уменьшаться, достигая минимальных значений, при этом содержание С-фикоцианина будет увеличиваться. Технически осуществить такие условия возможно благодаря использованию двухступенчатого люминостата, первая ступень которого находится близко к источнику света и поглощает большую часть световой энергии. Свет, попадающий во вторую ступень, будет отличаться по спектральному составу, так как культура в первой ступени поглотит большую часть энергии в синей и красной области, т. е. на максимумах поглощения хлорофилла а и каротиноидов.

Целью данной работы являлась исследование накопления С-фикоцианина в клетках *S. platensis*, выращиваемой в двухступенчатом люминостате.

Материал и методы.

В качестве объекта исследования была выбрана *Spirulina (Arthrospira) platensis*, полученная из коллекции Института морских биологических исследований им. А. О. Ковалевского. *S. platensis* выращивали в унифицированной лабораторной установке на питательной среде Заррук [4]. Температура поддерживалась на уровне $27 \pm 0,5^\circ\text{C}$. Освещённость поверхности фотобиореактора составляла 5,7 клк. Плоскопараллельный

культиватор состоял из двух секций, расположенных друг за другом. Толщина первой секции состояла 1 см, толщина второй – 2 см. В эксперименте проводили измерение температуры, оптической плотности культуры микроводорослей, а также сухой биомассы. Освещённость поверхности фотобиореактора определяли люксметром Ю-116. Оптическую плотность рассчитывали по формуле: $D = -\lg(T)$, где T – величина пропускания, определяемая на КФК-2 при длине волны 750 нм, погрешность измерения величины пропускания не превышала 1 %. При пересчёте единиц оптической плотности на сухую биомассу использовали эмпирический коэффициент 0,8.

Количественное определение содержания С-фикоцианина проводили спектрофотометрическим методом: проводили экстракцию дистиллированной водой, спектры экстрактов регистрировали на спектрофотометре СФ-2000. Расчёт концентрации С-фикоцианина проводили по [5].

Результаты и обсуждение.

Первым шагом нашей работы являлось определение максимальной удельной скорости роста и продуктивности культуры *S. platensis* в первой секции. Эти величины являются характеристиками роста при заданных внешних условиях. На рисунке 1 представлена накопительная кривая роста *S. platensis* в первой секции.

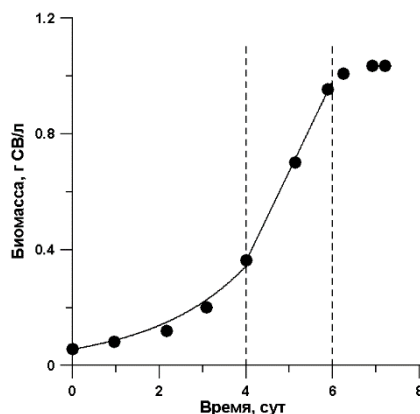


Рисунок 1 – Накопительная кривая роста *S. platensis* в первой секции. Аппроксимация экспоненциальной и линейной фазы роста. Пунктирная линия границы фаз роста. Значения коэффициентов в тексте

Величина удельной скорости роста в экспоненциальной фазе определяется, в основном, световыми условиями, которые для низких плотностей культуры неизменны, т. к. клетки не затеняют друг друга. Этот период характеризуется постоянством удельной скорости роста ($\mu_m = \text{const}$). Для логарифмической фазы роста зависимость плотности культуры от времени имеет вид:

$$B = 0,056 \cdot e^{0,45 \cdot t}$$

Удельная скорость роста составила $0,45 \text{ сут}^{-1}$.

Далее рассмотрим участок накопительной кривой с 4 по 6 сутки. На этом участке наблюдается линейный рост биомассы, что свидетельствует об ограничении скорости роста культуры. Максимальная продуктивность была определена с помощью аппроксимации линейной фазы накопительной кривой уравнением:

$$B = 0,36 + 0,31 \cdot (t - 4)$$

Максимальная продуктивность составила $0,31 \text{ г СВ}/(\text{л} \cdot \text{сут})$.

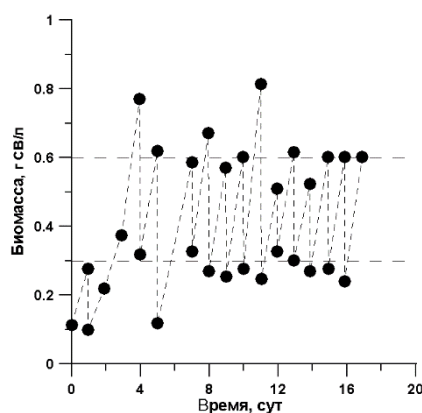


Рисунок 2 – Стабилизация плотности культуры *S. platensis* в полупроточном режиме культивирования в первой секции

Для достижения поставленной цели в первой секции был организован полупроточный режим культивирования: ежедневно, в соответствии с ранее определённой удельной скоростью роста, осуществлялся 45 % обмен культуральной среды на свежую питательную среду. Благодаря этому режиму удалось достичь

стабилизации плотности культуры в диапазоне от 0,3 до 0,6 г СВ/л. Плотностатное культивирование проводилось в течение 16 суток. На рисунке 2 представлен рост биомассы при плотностатном культивировании.

Так как культура *S. platensis* в первой секции находилась в оптимальных световых условиях, содержание С-фикоцианина в клетках было не велико и составляло 0,5 % от сухого вещества. Иную картину мы наблюдали во второй секции: из-за того, что количество световой энергии, приходящееся на единицу биомассы, уменьшалось и отличалось по спектральному составу, скорость роста культуры уменьшилась, при этом происходило накопление С-фикоцианина. На рисунке 3 представлен спектр излучения световой решетки, спектр пропускания культуры *S. platensis*, а также спектр света, попадающий на вторую секцию. Анализируя представленные данные, можно показать, что после прохождения через первую секцию общее количество световой энергии (площадь под нижней кривой) примерно в 7 раз ниже суммарной энергии, попадающей на поверхность первой секции. Также, отметим, что большая часть световой энергии, попадающей во вторую секцию, приходится на зеленую и желтую часть спектра, что приводит к накоплению пигментов фикобилиновой природы (С-фикоцианина и аллофикоцианина).

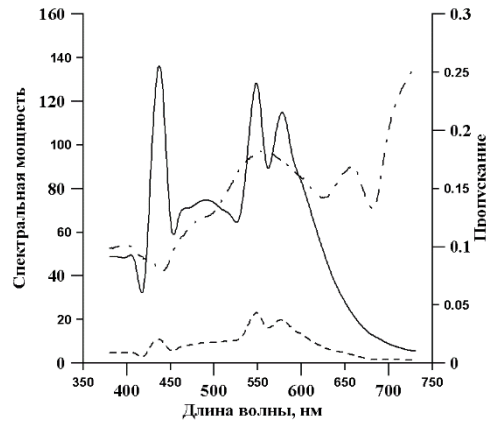


Рисунок 3 – Спектр излучения люминесцентных ламп TDM Electric 18 Вт (сплошная линия), спектр пропускания культуры *S. platensis* в первой секции (штрих-пунктирная линия) и спектр проходящего через культуру света (пунктирная линия)

На рисунке 4 представлена кривая роста культуры *S. platensis* во второй секции. Отметим отсутствие экспоненциальной фазы роста, что обусловлено световым лимитированием. Полученное значение максимальной продуктивности роста составило 0,09 г СВ/(л·сут), соответственно уравнение линейной фазы имеет вид:

$$B = 0,16 + 0,09 \cdot (t - 1).$$

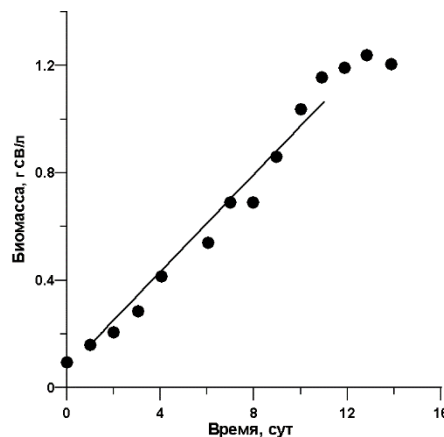


Рисунок 4 – Кривая роста культуры *S. platensis* во второй секции. Аппроксимация линейного участка, значение коэффициента в тексте

Во второй секции содержание в клетках С-фикоцианина увеличивалось с ростом плотности культуры: в начале линейного участка составило 3,5 %, а в конце – 8 %. Полученные величины свидетельствуют о значительном увеличении содержания С-фикоцианина по сравнению с первой секцией в 16 раз. При организации полупроточного режима культивирования во второй секции с удельной скоростью потока 10 %, мы можем стабилизировать плотность культуры на уровне около 1 г СВ/л. В таких условиях, возможно получить 100 мг биомассы или 8 мг С-фикоцианина с литра культуры в сутки.

Заключение.

Благодаря использованию двухступенчатой системы культивирования (двухступенчатый люминостат) удалось достичь увеличения содержания С-фикоцианина в клетках *S. platensis* в 16 раз. С учётом определенной максимальной продуктивности культуры *S. platensis* (0,09 г СВ/(л·сут)) во второй секции производительность по С-фикоцианину составила 8 мг в сутки. Эта величина может быть увеличена путём организации непропорционально-проточного культивирования: культуральная среда с первой секции, после обмена, вносится во вторую.

Список литературы / References:

1. Sarada R., Pillai M.G., Ravishankar G.A. Phycocyanin from *Spirulina* sp: influence of processing of biomass on phycocyanin yield, analysis of efficacy of extraction methods and stability studies on phycocyanin. *Process Biochemistry*, 1999, 34, pp. 795-801.
2. Дробецкая И.В. Влияние условий минерального питания на рост и химический состав *Spirulina platensis* (Nordst.) Geitler. *Дис. ... канд. биол. наук*, Севастополь, 2005, 202 с. [Drobetskaja I.V. Influence of mineral nutrition on the growth and chemical composition of *Spirulina platensis* (Nordst.) Geitler. *Dis. ... cand. biol. of sciences*, Sevastopol, 2005, 202 p. (In Russ.)]
3. Boussiba S., Rihmond E. Isolation and characterization of phycocyanins from the blue-green alga *Spirulina platensis*. *Arch. Microbiol.*, 1979, 120, pp. 155-159.
4. Тренкеншу Р.П., Лелеков А.С., Боровков А.Б., Новикова Т.М. Унифицированная установка для лабораторных исследований микроводорослей. *Вопросы современной альгологии*, 2017, т. 1, № 13, URL: <http://algology.ru/1097>. [Trenkenshu R.P., Lelekov A.S., Borovkov A.B., Novikova T.M. Unified setup for laboratory studies of microalgae. *Voprosy sovremennoj al'gologii*, 2017, vol. 1, no. 13, URL: <http://algology.ru/1097>. (In Russ.)]
5. Стаднийчук И.Н. Фикобилипротеины. *Биологическая химия. (Итоги науки и техники ВИНТИ АН СССР)*, М., 1990, т. 40, 196 с. [Stadnijchuk I.N. Phycobiliproteins. *Biologicheskaya himiya. Itogi nauki i tekhniki VINITI AN SSSR*, М., 1990, vol. 40, 196 p. (In Russ.)]

С-ФИКОЦИАНИН КАК ПОКАЗАТЕЛЬ КАЧЕСТВА БАД ИЗ СПИРУЛИНЫ

Егунова А. И.¹, Баяндурова Л.С.¹, Дорошенко Ю.В.², Лелеков А.С.²

¹ГБОУ ЦДОД «Малая академия наук города Севастополя»

пр. Ген. Острякова, 163, г. Севастополь, 299055, РФ

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

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

e-mail: a.lelekov@yandex.ru

Аннотация. Проведены исследования рынка по наличию и ассортименту БАД *Spirulina platensis*. Для определения содержания С-фикоцианина в БАД из спирулины исследовали 3 образца различных торговых марок. В качестве контроля использовали 2 образца нативной спирулины, выращенной на базе ИМБИ РАН г. Севастополь. Дополнительно проведена оценка органолептических показателей: запах, вкус и цвет. Установлено, что среднее содержание С-фикоцианина в БАД составило 1,15 - 1,96 %, что значительно ниже нормы. По органолептическим показателям лучшим образцом оказалась торговая марка "Спирулина ВЭЛ" (НПО "Экология питания", г. Москва), а худшим – «Золотая спирулина» (г. Николаев).

Ключевые слова: *Spirulina platensis*, накопительная культура, С-фикоцианин.

C-PHYCOCYANIN AS AN INDICATOR OF THE QUALITY OF DIETARY SUPPLEMENT OF SPIRULINA

Egunova A.I.¹, Bayandurova L.S.¹, Doroshenko Yu.V.², Lelekov A.S.²

¹Minor Academy of Science in Sevastopol

Generala Ostryakova av., 163, Sevastopol, 299055, Russia

²Institute of Marine Biological Research A.O. Kovalevsky

Nachimov av., 2, Sevastopol, 299011, Russia

e-mail: a.lelekov @ yandex.ru

Abstract. Market research on the availability and range of BAD *Spirulina platensis* were conducted. To determine the C-phycocyanin content from *S. platensis* 3 samples of different brands was examined. As a control, 2 sample of native *S. platensis* grown on the basis of IMBI (Sevastopol) was used. The organoleptic characteristics: smell, taste, and color were evaluated. It is established that the average content of C-phycocyanin in BAD is amounted to 1.15 - 1.96 %, which is significantly below the norm. According to the organoleptic characteristics, the best model was the trademark "Spirulina VEL" ("Ecology of power", Moscow) and the worst – "The Golden spirulina" (Nikolaev).

Key words: *Spirulina platensis*, batch culture, C-phycocyanin.

Микроводоросли широко используются в научно-исследовательских и промышленных целях [1-4]. Среди широких слоёв населения наибольшую известность и популярность получила *Spirulina (Arthrospira) platensis*,