

Пигментный комплекс *Spirulina platensis* при повторном использовании модифицированной питательной среды Заррука

Е. В. Вязов*, Е. Е. Мананкина, Р. Г. Гончарик,
Е. А. Филипчик, Н. В. Шалыго

Институт биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси
Республика Беларусь, 220072 г. Минск, улица Академическая, 27.

*Email: viazau@yahoo.com

Биомасса *Spirulina (Arthrospira) platensis* широко применяется в различных отраслях промышленности. Важным вопросом для ее производства является снижение стоимости питательной среды. Показана возможность однократного использования модифицированной питательной среды Заррука для культивирования спирулины без снижения продуктивности культуры и содержания фотосинтетических пигментов в биомассе спирулины, при условии применения смеси свежеприготовленной и использованной сред в соотношении 1:1 по объему. Эти данные можно использовать для снижения затрат на производство биомассы спирулины.

Ключевые слова: *Spirulina platensis*, модифицированная среда Заррука, пигменты, продуктивность.

Введение. Биомасса цианобактерии (сине-зеленой водоросли) *Spirulina platensis* активно используется в различных отраслях промышленности. Пигментный состав спирулины характеризуется высоким содержанием хлорофилла *a* при полном отсутствии других хлорофиллов, что делает биомассу спирулины наиболее перспективным сырьем для производства хлорофилла *a* и его производных, которые применяются в фотодинамической терапии онкологических заболеваний и в офтальмологии [1]. Одним из наиболее актуальных вопросов для биотехнологического производства биомассы спирулины является вопрос снижения стоимости питательной среды. Проведенные нами ранее опыты по определению эффективности повторного использования стандартной питательной среды Заррука для выращивания спирулины показали, что однократное повторное использование среды не приводит к снижению продуктивности культуры, в отличие от двух-, трех- и четырехкратного повторного использования. Содержание хлорофилла *a* и общего белка при этом также не меняется [2]. Помимо этого, ранее нами была установлена возможность частичной замены NaHCO_3 на NaOH в среде Заррука без снижения содержания хлорофилла в биомассе. NaHCO_3 – основной компонент среды Заррука, в которой его содержится 16.8 г/л. Оптимальной с точки зрения соотношения величины затрат на реактивы и качества получаемой био-

массы является модифицированная среда Заррука с 8.4 г/л NaHCO_3 и 0.1 г/л NaOH (МСЗ) [3].

Целью настоящей работы было изучение влияния повторного использования модифицированной среды Заррука для культивирования спирулины на продуктивность культуры и содержание пигментов в биомассе.

Объект и методы исследования. Спирулину (*Spirulina platensis* штамм IBCE S-2) из коллекции Института биофизики и клеточной инженерии НАН Беларуси культивировали в течение 7 суток при температуре $23 \pm 2^\circ\text{C}$ и освещенности 5000 лк на свежеприготовленной среде МСЗ (контроль), среде МСЗ, использованной ранее для выращивания цианобактерии в течение 7 суток (вариант «100% ИС») и смеси свежеприготовленной и использованной сред МСЗ в пропорции 1:1 по объему (вариант «50% ИС»). Продуктивность оценивали по содержанию сухой биомассы в суспензии, определяемому спектрофотометрически согласно [4]. Содержание хлорофилла и каротиноидов в биомассе определяли по спектру поглощения экстракта, полученного с помощью 100%-го ацетона, рассчитывая его по формулам Шлыка, модифицированным для спирулины [5]. Фикоцианин извлекали из биомассы с помощью К-, Na-фосфатного буфера (50 мМ, pH 7.0) и определяли его содержание по оптической плотности экстракта согласно методике, описанной в [4]. Все перечисленные параметры измеряли в начале опыта (0-ые сутки), на 3-ьи и на 7-ые сутки выращивания.

Результаты. Содержание сухой биомассы спирулины в суспензии (рис. 1) при применении однократно использованной среды МСЗ («50% ИС» и «100% ИС») достоверно не отличалось от контроля в течение всего времени культивирования. В частности, на

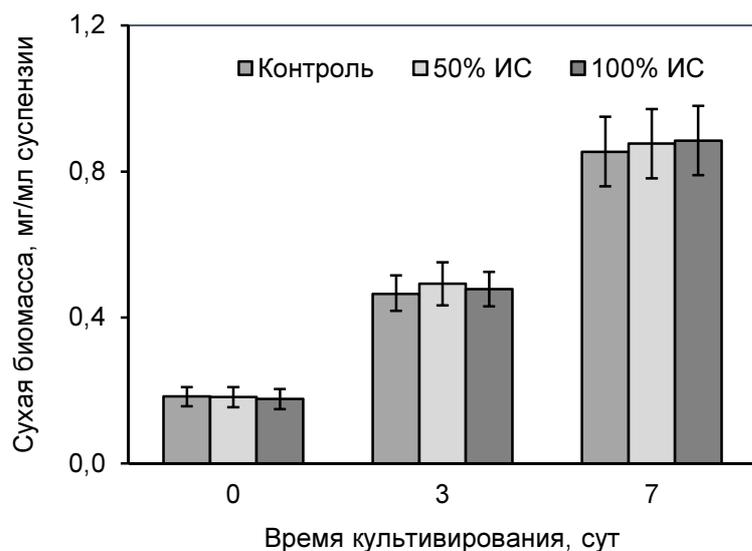


Рис. 1. Динамика накопления сухой биомассы в суспензии спирулины при выращивании в однократно использованной МСЗ. ИС – однократно использованная МСЗ. Варианты – см. описание методики.

7-ые сутки эксперимента оно было выше контроля (свежая среда) на 3% в варианте «50% ИС» и на 4% в варианте «100% ИС». Из полученных данных видно, что снижения продуктивности спирулины, которого можно было ожидать вследствие уменьшения содержания ключевых питательных веществ в использованной среде, в наших условиях эксперимента не происходило.

В варианте «50% ИС» не обнаружено достоверных отличий от контроля по содержанию хлорофилла *a* и фикоцианина. В тоже время, в варианте «100% ИС» после 7 суток выращивания содержание хлорофилла *a* и фикоцианина уменьшалось приблизительно в 1.4 раза в сравнении с контролем (табл. 1). Выявленное снижение количества хлорофилла и фикоцианина при применении однократно использованной среды МСЗ («100% ИС») может быть вызвано снижением количества ионов магния и железа в ней. Из литературы известно, что в ходе культивирования *Spirulina platensis* происходит существенное уменьшение содержания данных элементов в питательной среде [6]. Учитывая то, что в состав МСЗ, как и стандартной среды Заррука, входит на порядок большее количество магния, чем железа (оба в форме сульфатов), а также то, что содержание железа, в отличие от магния, регулирует синтез и активность ряда ферментов биосинтеза тетрапирролов на общих участках для хлорофиллов и фикобилинов [7], можно предположить, что негативный эффект повторного использования МСЗ («100% ИС») на накопление хлорофилла и фикоцианина связан именно с недостатком ионов Fe^{2+} .

Таблица 1. Содержание пигментов в биомассе спирулины при повторном использовании МСЗ

Вариант	0 суток	3 суток	7 суток
	Содержание хлорофилла <i>a</i> , мкг/г СМ*		
Контроль	5.72 ± 0.40	5.31 ± 0.59	8.55 ± 0.57
50% ИС	6.28 ± 0.78	5.34 ± 0.44	7.99 ± 0.47
100% ИС	5.87 ± 0.50	5.24 ± 0.65	6.28 ± 0.87
	Содержание фикоцианина, мкг/г СМ		
Контроль	40.13 ± 9.41	39.30 ± 12.45	69.97 ± 7.42
50% ИС	49.22 ± 10.62	45.40 ± 13.00	66.30 ± 6.37
100% ИС	44.66 ± 8.02	42.25 ± 11.58	50.52 ± 7.47
	Содержание каротиноидов, мкг/г СМ		
Контроль	1.38 ± 0.09	1.36 ± 0.17	1.39 ± 0.13
50% ИС	1.50 ± 0.21	1.33 ± 0.15	1.32 ± 0.10
100% ИС	1.35 ± 0.23	1.48 ± 0.11	1.50 ± 0.25

*СМ – сухой массы

По содержанию каротиноидов не выявлено достоверных различий между вариантами «50% ИС», «100% ИС» и контролем (табл. 1). Несмотря на то, что каротиноиды, также как хлорофилл и фикоцианин, являются пигментами-светосборщиками фотосинтетического аппарата, они имеют принципиально отличную молекулярную структуру, синтезируются и регулируются по совершенно иному пути [8].

Заключение. Показано, что культивирование спирулины в однократно использованной модифицированной среде Заррука не приводит к снижению продуктивности и содержания каротиноидов по сравнению со свежеприготовленной МСЗ. Однако для того, чтобы избежать снижения содержания хлорофилла *a* и фикоцианина в биомассе (актуально для фармацевтической, косметической и пищевой промышленности), необходимо применение смеси свежеприготовленной и однократно использованной МСЗ в соотношении 1:1 по объему, так как при выращивании спирулины в однократно использованной МСЗ наблюдается снижение содержания указанных пигментов в биомассе. Это, по-видимому, вызвано недостатком железа в использованной среде, так как его ионы играют ключевую роль в биосинтезе тетрапирролов, в том числе хлорофилла и фикоцианина, имеющих общие зависимые от Fe^{2+} участки в цепи биосинтеза.

Работа финансирована в рамках Государственной программы Республики Беларусь «Наукоёмкие технологии и техника» (мероприятие 33, 2016–2020 гг.).

Литература

1. Трухачева Т. В., Шляхтин С. В., Исаков Г. А., Истомин Ю. П. Фотолон – современный фотосенсибилизатор для фотодинамической терапии. Минск : Парадокс, 2013. 103 с.
2. Шалыго Н. В., Мананкина Е. Е., Вязов Е. В., Гончарик Р. Г., Филипчик Е. А. Эффективность повторного использования среды Заррука при культивировании спирулины // Материалы II межд. науч.-практ. конф., 7–8 декабря 2017 года, Пинск : ПолесГУ. С. 115–117.
3. Вязов Е. В., Мананкина Е. Е., Филипчик Е. А., Гончарик Р. Г., Шалыго Н. В. Продуктивность и пигментный комплекс сине-зеленой водоросли *Spirulina platensis* при частичной замене бикарбоната натрия на гидроксид натрия в среде культивирования // Весці НАН Беларусі. Сер. біял. навук. 2017. №4. С. 7–12.
4. Sasaki K., Marquez F. J., Nishio N., Nagai S. Promotive effect of 5-aminolevulinic acid on the growth and photosynthesis of *Spirulina platensis* // Journal of Fermentation and Bioengineering. 1995. Vol. 79. No 5. Pp. 453–457.
5. Мельников С. С., Самович Т. В., Мананкина Е. Е., Будакова Е. А. Влияние чередования световых и темновых периодов на продуктивность *Spirulina (Arthrospira) platensis* (Nordst.) Geitler // Альгология. 2012. Т. 22. №2. С. 121–130.
6. Veiga, N. F. M. Recycling of the culture medium for pilot scale production of *Arthrospira platensis* (*Spirulina*): thesis to obtain the Master of Science degree in biological engineering. Lisbon, 2016. 94 p.
7. Аверина Н. Г. Биосинтез тетрапирролов в растениях. Минск : Беларуская навука. 413 с.

8. Liang C., Zhao F., Wei W., Wen Z., Qin S. Carotenoid Biosynthesis in Cyanobacteria: Structural and Evolutionary Scenarios Based on Comparative Genomics // International Journal of Biological Sciences. 2006. – Vol. 2. No 4. Pp. 197–207.

The pigment complex of *Spirulina platensis* cultivated in recycled modified Zarrouk culture medium

Y. Viazau*, E. Manankina, R. Goncharik, E. Filipchik, N. Shalygo

*Institute of Biophysics and Cell Engineering, National Academy of Sciences of Belarus
27 Akademicheskaya Street, 220072 Minsk, Belarus.*

**Email: viazau@yahoo.com*

Biomass of *Spirulina (Arthrospira) platensis* has a wide range of applications in several areas. Reduction of the cost of the culture medium is an important issue for its production. The possibility of a single repeated usage of the modified Zarrouk culture medium for spirulina cultivation without change in culture productivity and photosynthetic pigment contents is shown, given that the mixture of a freshly prepared and once recycled mediums in the ratio of 1:1 by volume is used. These data will allow for reduction of the costs of spirulina biomass production.

Keywords: *Spirulina platensis*, modified Zarrouk medium, pigments, productivity.