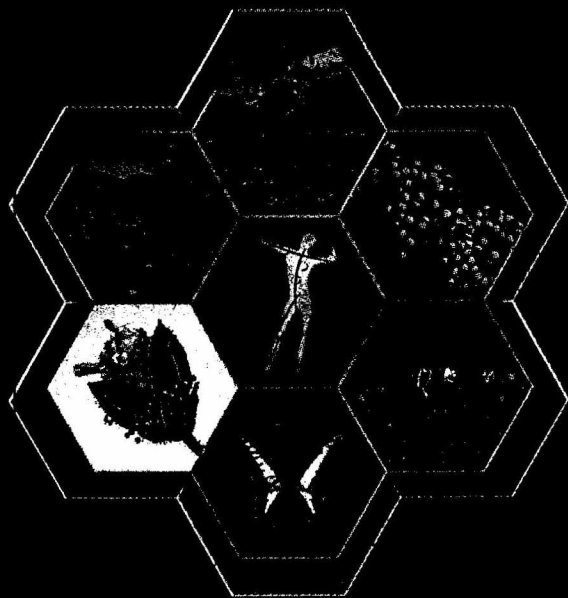


Посвящается 200-летию Кавказских Минеральных Вод



1803-2003

БИОРЕСУРСЫ БИОТЕХНОЛОГИИ ИННОВАЦИИ ЮГА РОССИИ



**МАТЕРИАЛЫ
МЕЖДУНАРОДНОЙ
НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ КОНФЕРЕНЦИИ**

Ставрополь - Пятигорск
2003

**ПРАВИТЕЛЬСТВО СТАВРОПОЛЬСКОГО КРАЯ
СТАВРОПОЛЬСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
ПЯТИГОРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ
НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ КУРОРТОЛОГИИ
МИНИСТЕРСТВА ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РФ
ИННОВАЦИОННО-ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ ЦЕНТР "ЛИК"**

**БИОРЕСУРСЫ
БИОТЕХНОЛОГИИ
ИННОВАЦИИ
ЮГА РОССИИ**

**МАТЕРИАЛЫ
МЕЖДУНАРОДНОЙ НАУЧНО-ПРАКТИЧЕСКОЙ
КОНФЕРЕНЦИИ**

(21 - 24 октября 2001 г.)

Часть 2

**Ставрополь - Пятигорск
2003**

РАЗРАБОТКА СПОСОБА ПОЛУЧЕНИЯ ЙОДИРОВАННОЙ БИОМАССЫ СПИРУЛИНЫ

О.М.Наливода, А.В.Котинский, Г.В.Донченко, А.И.Салюк

Институт биохимии им. А.В.Палладина НАН Украины, г.Киев,

Национальный университет пищевых технологий, г. Киев

В последнее время большинство стран мира занимаются изучением нетрадиционных источников биологически активных веществ. В качестве продуцента этих веществ с успехом используется синезеленая микроводоросль *Spirulina platensis*. Она содержит уникальный комплекс необходимых организму человека компонентов, в частности способна синтезировать йодсодержащие соединения гормональной природы – тироксин и трийодтиронин, которые легко усваиваются человеческим организмом [1]. Собственно тироксин является одним из основных источников биостимулирующего эффекта спирулины. Синтезируя в присутствии ионов йода тироксин и другие йодсодержащие биологически активные соединения, спирулина представляет собой достойный объект биотехнологии и поэтому исследования по интенсификации процессов биосинтеза этих соединений являются актуальными.

На повестке дня стоит вопрос производства искусственно обогащенных йодсодержащих продуктов, а также получения продуктов из натурального йодсодержащего сырья. Таким сырьем может быть биомасса спирулины, которая содержит йод в связанном с белками виде.

Целью настоящей работы явилось изучение возможностей выращивания йодированной биомассы спирулины с определенным набором биологически активных веществ и йода.

Для исследований использовалась культура трихомной цианобактерии *Spirulina platensis* (Gom.) Geitl. Штамм ЛГУ-603. Морфологические признаки цианобактерии: ширина витков спирали – 26-36 мкм; расстояние между витками – 43-57 мкм; диаметр трихомов – 2,5-5,5 мкм; длина – до 250 мкм. Положение штамма в ботанической номенклатуре: тип – Cyanophyta; класс – Hormogoneae; порядок – Oscillatoriales Elenk, emend. Kondrat; под – *Spirulina* Turp.; вид – *Spirulina platensis* (Gom.) Geitl.

Культуру цианобактерии *Spirulina platensis* выращивали в разработанном нами горизонтальном плоскостном аэрифтном фотобиореакторе закрытого типа, который обеспечивает оптимальные условия культивирования [2].

Известно, что на процесс выращивания спирулины влияют такие основные факторы, как температура суспензии, освещенность и pH среды, а также концентрация биомассы в суспензии [3]. Ранее нами показано, что для

получения наибольшего прироста биомассы спирулины в плоскостном аэрлифтном фотобиореакторе закрытого типа культивирование следует проводить при температуре суспензии 33°C [4].

Процесс культивирования спирулины проходил в накопительном режиме на протяжении 120 ч при температуре среды $33 \pm 1,5^\circ\text{C}$, концентрация среды Заррука – 50%, начальная плотность – 0,3 г/л, pH среды 10,0...10,5 и при постоянной аэрации суспензии воздухом. Необходимое штучное освещение осуществляли с помощью ламп типа ДРЛ-250 и ДРЛ-400.

Соединения йода и кобальта в среду культивирования вносили дробно.

На первом этапе исследований изучали влияние интенсивности освещения на процесс аккумуляции йода клетками спирулины. Процесс культивирования проводился при трех уровнях освещения: 5,0; 8,0 и 11,0 кЛк. В начале культивирования в питательную среду вносили 0,2 мг/л йодида калия, что соответствует 1,2 мкМ йода (табл. 1).

Таблица 1

Влияние освещенности на процесс накопления йода в биомассе спирулины при внесении в среду культивирования 0,2 мг/л йодида калия

Освещение, кЛк	Биомасса, г/л	Содержание белка, % АСБ	Содержание йода, % АСБ
5,0	$1,83 \pm 0,03$	$52,3 \pm 1,05$	$0,0047 \pm 0,0002$
8,0	$2,24 \pm 0,05^*$	$56,2 \pm 1,08$	$0,0080 \pm 0,0005^*$
11,0	$2,06 \pm 0,03$	$50,3 \pm 1,03$	$0,0050 \pm 0,0004$

* Различия достоверны по отношению к показателям при освещении 5,0 кЛк, $p < 0,05$.

Как видно из табл. 1, наибольшее накопление йода происходит при освещении 8,0 кЛк. При других уровнях освещенности содержание йода было значительно ниже. Выход биомассы спирулины и содержание белка также были максимальными при освещенности 8,0 кЛк. С повышением уровня освещенности культуры до 11,0 кЛк происходит угнетение роста биомассы и снижение содержания белка в клетках, что сопровождается значительным снижением йодаккумулирующей способности спирулины. Можно сделать предположение, что содержание йода в биомассе зависит от интенсивности освещенности среды культивирования. Дальнейшие исследования проводили при освещенности 8,0 кЛк.

Следующим этапом работы явилось изучение процесса аккумуляции йода клетками спирулины в зависимости от его концентрации в среде культивирования. Согласно полученным результатам (табл. 2), повышение количества йодида калия в среде культивирования приводит к повышению содержания йода в биомассе спирулины, однако эти величины незначительны, а внесение в среду культивирования 15 и 30 мкМ йода в виде йодида калия даже приводит к снижению продуктивности культуры и содержания белка.

Таким образом, нами показано, что использование только ионов йода различной концентрации в среде культивирования не позволяет получить биомассу спирулины с достаточно большим содержанием йода, т.е. получить концентрированный источник органически связанного йода, а добавлением значительных количеств йода приводит даже к угнетению роста биомассы.

Таблица 2

Влияние различных концентраций йодида калия в среде культивирования на продуктивность биомассы спирулины

	Содержание йода в среде культивирования, мкМ	Биомасса, г/л	Содержание белка, % АСБ	Содержание йода, % АСБ
контроль	-	2,11±0,05	55,8±1,12	следы
опыт	0,6	2,24±0,06	56,2±1,08	0,0080±0,0005 [*]
опыт	3,0	2,38±0,08	59,4±1,03	0,0280±0,001 [*]
опыт	6,0	2,47±0,05 [*]	61,8±1,21 [*]	0,0486±0,002 [*]
опыт	15,0	2,22±0,04	60,7±1,16	0,0906±0,003 [*]
опыт	30,0	1,95±0,05	54,3±1,34	0,1120±0,002 [*]

^{*} Различия достоверны по отношению к показателям контроля, $p < 0,05$.

Опубликован ряд данных, свидетельствующих об участии цианкобальминов в синтезе белка, метионина, восстановлении дисульфидных связей [5]. Исходя из этого, высказано предположение, что добавление ионов кобальта в среду культивирования может интенсифицировать процессы синтеза белков спирулины и, в частности, йодсодержащих соединений белковой природы.

Поэтому следующим этапом исследований явилось изучение влияния на йодаккумулирующую способность спирулины различных концентраций йода совместно с ионами кобальта в определенных соотношениях.

Таблица 3

**Влияние различных концентраций йода и кобальта в
среде культивирования на продуктивность биомассы
спирулины**

Соотношение Г: Co^{2+} , мкМ	Биомасса, г/л	Содержание белка, % АСБ	Содержание йода, %АСБ
контроль	2,11±0,05	55,8±1,12	следы
3,0:3,0	2,45±0,05	60,6±1,06	0,0607±0,002
3,0:6,0	2,42±0,06	60,2±1,06	0,0633±0,002
3,0:12,0	2,49±0,08	62,0±1,05	0,0652±0,002
15,0:15,0	2,40±0,05	66,7±1,12	0,258±0,004
15,0:30,0	2,63±0,05	69,7±1,18	0,297±0,004
15,0:60,0	2,74±0,06	67,0±1,18	0,244±0,003
30,0:30,0	2,24±0,05	69,0±1,16	0,358±0,005
30,0:60,0	2,50±0,06	68,5±1,19	0,500±0,003
30,0:120,0	1,79±0,06	52,1±1,05	0,088±0,004

Как видно из табл. 3, внесение в среду культивирования одновременно ионов йода и кобальта привело к адаптации спирулины к высоким концентрациям ионов йода. Так внесение 30 мкМ ионов йода с 30 и 60 мкМ ионов кобальта приводит к увеличению продуктивности на 34...40%, содержания белка на 7...23% и содержание органически связанного йода увеличивается в 2 и более раза (см. для сравнения табл. 2).

Таким образом, можно утверждать, что одновременное внесение в среду культивирования ионов йода и кобальта в определенных соотношениях способствует адаптации клеток спирулины к высоким концентрациям йода и кобальта и интенсифицирует процессы биосинтеза спирулины.

Таблица 4

**Дробное внесение солей йода и кобальта в процессе
культивирования спирулины**

Всего внесено микроэлемента, мкмоль		Дробное внесение солей, мг/л									
йод	кобальт	1-е сутки		2-е сутки		3-и сутки		4-е сутки		5-е сутки	
		KI	$\text{Co}(\text{N O}_3)_2$	KI	$\text{Co}(\text{N O}_3)_2$	KI	$\text{Co}(\text{N O}_3)_2$	KI	$\text{Co}(\text{N O}_3)_2$	KI	$\text{Co}(\text{N O}_3)_2$
3	6	0,83	0,92	0,166	0,178						
15	30	0,83	0,92	1,66	1,83	2,49	2,74				
30	60	0,83	0,92	1,66	1,83	2,49	2,74	2,49	2,74	2,49	2,74

Однако при значительных концентрациях ионов йода и кобальта, внесенных в среду культивирования по отдельности или вместе однократно, происходит резкое снижение фотосинтетической активности спирулины: снижается продуктивность и синтез белка. Поэтому мы разработали схему дробного внесения указанных солей в процессе культивирования биомассы (табл. 4).

Сравнительный анализ выращивания спирулины при различных соотношениях ионов йода и кобальта в среде инкубации и дробном их внесении показал, что варьируя это соотношение можно получить биомассу спирулины с определенным содержанием органически связанного йода. Именно разработанная нами схема дробного внесения солей йода и кобальта позволила адаптировать спирулину к высоким концентрациям их в среде культивирования и повысить продуктивность спирулины в процессе роста биомассы. Наибольшее положительное влияние на фотосинтетическую активность спирулины оказывает внесение в среду культивирования 30,0 мкМ йода и 60 мкМ кобальта.

Таблица 5

Биохимический состав биомассы спирулины, полученной при культивировании в присутствии ионов йода и кобальта

Показатели	Условия культивирования				Данные литературы [6-9] без ионов йода и кобальта
	без ионов йода и кобальта (контроль)	30,0 мкМ йода	60,0 мкМ кобальта	30,0 мкМ йода и 60,0 мкМ кобальта	
Продуктивность, г АСБ/л	2,11±0,05	1,95±0,05	2,27±0,03	2,50±0,06	0,6...2,0
Белок, % АСБ	55,8±1,12	54,3±1,34	55,0±1,04	68,1±1,43	48...65
Хлорофилл, % АСБ	2,16±0,09	2,27±1,10	1,93±0,08	1,88±0,14	0,5...1,15
Фикоцианин с, % АСБ	17,4±1,07	18,7±1,10	15,3±1,03	23,3±1,02	3,84...15
Каротиноиды, % АСБ	0,24±0,03	0,16±0,03	0,36±0,05	0,11±0,02	0,12...0,46
Витамин С, мг % АСБ	87,4±0,6	97,6±0,4	90,3±0,6	94,0±0,5	5,0...170
Витамин В ₁₂ , мкг % АСБ	9,13±0,07	9,87±0,05	14,96±0,06	16,4±0,05	98...175
Иод, % АСБ	следы	0,112±0,004	следы	0,5±0,005	0,006...0.030 ^x

^x При специальном внесении в среду культивирования йодида калия 10,0 мг/л.

Проведенный биохимический анализ биомассы спироулины, полученной при выращивании микроводоросли с добавлением в среду культивирования 30,0 мкМ ионов йода и 60 мкМ кобальта (табл. 5) показал, что одновременное внесение ионов йода и кобальта приводит к повышению продуктивности биомассы на 18%, синтеза белка на 22,7%, фикоцианина на 33,7%, в то же время содержание каротиноидов снижается на 54,2%.

Таким образом, показано, что дробное внесение ионов йода и кобальта в определенных соотношениях в среду культивирования, дает возможность получить биомассу со значительным содержанием органически связанного йода (до 0,5 % АСБ) и определенным набором биологически активных веществ.

1. Передерий В.Г., Соловьева А.А. // Проблемы питания и здоровья. – 1996. – № 3-4. – С. 4-6.

2. А.с. 99031154/7200. Україна, МКІ⁶ А 01631/02 Фотореактор для вирощування водоростей / О.І.Адаменко, І.О.Адаменко, І.М.Голодний та ін. – Опубл. 15.02.2001. Бюл. № 1.

3. Yokogama E. // Plant Cell Physiol. – 1991. – 32. – Р. 827.

4. Котинський А.В., Салюк А.І., Чернухіна Л.О., Нікулін О.Ф. // Харчова та переробна промисловість. – 2001. – І. – С. 19-21.

5. Познанская А.А. // В кн.: Витамины / Под ред. М.И.Смирнова – М.: Медицина, 1974. – С. 264-302.

6. Саттыев Р., Каримова Х.М., Юсупов Э.Р., Зарипов Э. Промышленное культивирование микроводорослей. – М., 1985. – С. 108-110.

7. Шнюкова Е.И., Мушак П.А., Тупик Н.Д. // Альгология. – 1994. – 4, №3. – С. 17-24.

8. Тупик Н.Д., Лось С.И. // Укр. ботан. журн. – 1975. – 32, № 2. – С. 39-41.

9. Денчикова Л.А., Скутару Ю.В., Рудик В.Ф. // Альгология. – 1998. – 8, № 3. – С. 268-272.

Работа выполнена при поддержке Государственного Комитета Украины по делам семьи и молодежи за счет гранта Президента Украины для одаренной молодежи.