

УДК: 663.1. (574)

Д.К. Кирбаева*, Б.К. Заядан, А.К. Садвакасова, А.Ж. Бейсенова
Казахский национальный университет имени аль-Фараби, Казахстан, г. Алматы
*E-mail: dkirbaeva@mail.ru

Антиоксидантные вещества коллекционных штаммов цианобактерий *Spirulina platensis*

В статье представлены результаты по изучению продуктивности и пигментного состава биомассы коллекционных штаммов цианобактерии *Spirulina platensis* CALU 532 и *Spirulina platensis* ZBK. Установлено, что штамм *S. platensis* CALU 532 превышает штамм *S. platensis* ZBK по удельной скорости роста клеток и по выходу сухой биомассы. Количество сухой биомассы цианобактерии *S. platensis* CALU 532 на 6-е сутки составила – 4,1 г/л, а для *S. platensis* ZBK этот показатель равен 2,3 г/л. Изучение содержания пигментов в сухой биомассе исследуемых цианобактерий показало, что в биомассе *S. platensis* ZBK содержится 0,58 мг/г каротиноидов и 0,33 мг/г β-каротина, тогда как для культуры *S. platensis* CALU 532 эти цифры составляют 0,77 мг/г и 0,45 мг/г, соответственно. Установлено, что содержание фикобилипротеинов также превышает в биомассе коллекционного штамма *S. platensis* CALU 532, по сравнению с *S. platensis* ZBK. Так, содержание фикоцианина в биомассе культуры *S. platensis* CALU 532 выше на 5,3% и аллофикоцианина на 4,4%.

Ключевые слова: антиоксиданты, цианобактерии, Заррука, каротиноиды, фикобилипротеины, фикоцианин.

D.K.Kirbaeva, B.K.Zayadan, A.K.Sadvakasova, A.Zh.Beisenova
Antioxidant substances of collection strains cyanobacteria *Spirulina platensis*

In article is considered results of investigation of productivity and pigment contents of the biomass of collection strains of cyanobacteria *Spirulina platensis* CALU 532 and *Spirulina platensis* ZBK-1. It is found that the strain *S. platensis* CALU 532 exceeds of the strain *S. platensis* by speed growth of cells and by exit of dry biomass. Quantity of dry biomass cyanobacteria *S. platensis* CALU 532 on 6-days total-4,1g/l, for *S. platensis* ZBK-1 this measure equal -2.3 g/l. Investigation of maintenance of pigments in dry biomass researching of cyanobacteria showed that in biomass *S. platensis* ZBK-1 contents 0.58 mg/g carotenoids and 0.33 mg/g β-carotin, whereas for the culture *S. platensis* CALU 532 this number total 0.77mg/g and 0.45 mg/g, accordingly. It is established that content of phycobiliproteins also increase in biomass of collection strains *S. platensis* CALU 532 compare with *S. platensis* ZBK. Then, content phycocyanin in biomass of culture *S. platensis* CALU 532 higher on 5,3% and allophycocyanin on 4,4%.

Keywords: antioxidants, cyanobacteria, Zarruka, carotenoids, phycobiliproteins, phycocyanins.

Д.К. Кирбаева, Б.К. Заядан, А.К. Садвакасова, А.Ж. Бейсенова
Мұражайлық цианобактерия *Spirulina platensis* штамдарының антиоксидантты заттары

Мақалада мұражайлық цианобактерия *Spirulina platensis* CALU 532 және *Spirulina platensis* ZBK штамдарының өнімділігі мен биомасса құрамындағы пигменттерді зерттеу нәтижелері қарастырылған. Клеткалардың өсу жылдамдығы мен құрғақ биомасса жинақтауына қарай *S. platensis* CALU 532 және *S. platensis* ZBK штамдарында ерекшеліктер байқалды. 6 тәуліктен соң *S. platensis* CALU 532 құрамында 4,1 г/л биомасса жиналса, ал *S. platensis* ZBK штаммында бұл көрсеткіш 2,3 г/л-ге тең болды. Құрғақ биомассадағы пигменттерді анықтау барысында *S. platensis* ZBK штаммында 0,33 және 0,58 мг/г каротиноидтар мен β-каротин жинақталған болса, ал *S. platensis* CALU 532 штаммының құрамында бұл көрсеткіштер 0,77 және 0,45 мг/г жетті. Сондай-ақ фикобилипротеиндердің құрамына қарай мұражайлық *S. platensis* CALU 532 штаммы *S. platensis* ZBK штаммына қарағанда біршама жақсы нәтижелер беріп, фикоцианин 5,3%-ға, ал аллофикоцианин мөлшері 4,4%-ға жоғарылағаны анықталды.

Түйін сөздер: антиоксиданттар, цианобактериялар, Заррука, каротиноидтар, фикобилипротеиндер, фикоцианиндер.

В связи с ростом числа заболеваний и различных нарушений в организме человека, вызванных влиянием окислительного стресса, с целью предотвращения образования, а также нейтрализации свободных радикалов, возрос интерес исследователей к натуральным антиоксидантам - биологически активным соединениям, широко распространенным в природе. Спектр биологического действия антиоксидантов весьма разнообразен и обусловлен, в основном, их защитными функциями, выраженными в способности нейтрализовать негативное действие свободных радикалов [1, 2].

Благодаря наличию широкого спектра антиоксидантов в биомассе, спирулина считается важным биотехнологическим объектом. К антиоксидантам, содержащимся в биомассе цианобактерии *Spirulina platensis*, относят ненасыщенные и полиненасыщенные жирные кислоты; токоферол, каротиноиды (β -каротин, миксоксантофил, зеаксантин), фикобилипротеины (фикоцианин) и др. [3, 4].

Установлено, что высокие концентрации каротина (0,42 - 0,44%) в биомассе спирулины снижают концентрацию свободных радикалов в биоллипидных мембранах, препятствуя тем самым окислению липидов и липопротеидов. Доказано, что каротин уменьшает риск возникновения онкозаболеваний и способствует уменьшению количества холестерина в крови человека [5].

Помимо широко применяемого в качестве антиоксиданта β -каротина, все большее значение приобретает и другой пигмент спирулины, обладающий белковой природой и проявляющий антиоксидантные свойства, фикоцианин, относящийся к группе фикобилипротеинов. Данный пигмент является водорастворимым пигментом, применяемым в медицине и фармакологии из-за уникальных онкопротекторных и иммуномодулирующих свойств. При этом С-фикоцианин имеет большую антиоксидантную активность, чем β -каротин и α -токоферол [6].

Высокий потенциал фикоцианина, обнаруженный при лечении и профилактике различных тяжелых заболеваний, включая онкозаболевания и СПИД, делает его важным объектом для научного исследования [7].

В связи с этим цель данной работы – отбор активного штамма *Spirulina platensis* по продуктивности и высокому содержанию антиоксидантных веществ, перспективного для использования в биотехнологии.

Материалы и методы

В качестве объектов использовали штаммы цианобактерий *Spirulina platensis* ZBK и *Spirulina platensis* CALU 532 из коллекции культур микроводоросли лаборатории экологической биотехнологии КазНУ им. аль-Фараби.

Для культивирования цианобактерии спирулины была использована питательная среда Заррука с определенными соотношениями макро- и микроэлементов для нормального роста и развития культуры [8].

Выращивали водоросли в двухлитровых стаканах. Объем среды в культиваторах составлял 1 л, при высоте слоя раствора 18 см, при освещении лампами интенсивностью 6 кЛк. Температуру суспензии поддерживали в диапазоне от 27-32°C.

Удельную скорость роста цианобактерии рассчитывали по приросту численности клеток в экспериментальных сосудах по уравнению:

$$R = \ln(N_0/N_t)/t,$$

где: R – коэффициент скорости роста; t – время в сутках; N_0 и N_t – исходная численность клеток и их количество через время t [9].

Численность клеток оценивали с помощью двухлучевого регистрирующего спектрофотометра Specord UV-VIS на длине волны 750 нм.

Собранную в начале стационарной фазы роста биомассу промывали дистиллированной водой и сушили при 60°C до воздушно-сухого состояния.

Определение содержания белка в биомассе микроводорослей и цианобактерии производилось согласно методу, предложенному Lowry [10].

Содержание хлорофилла *a*, каротиноидов определяли путем их экстракции из биомассы 96% этанолом. Содержание с-фикоцианина и аллофикоцианина путем их экстракции из биомассы 20 мМ Na-ацетатным буфером (рН 5,5) и последующей спектроскопии экстрактов при OD_{650} и OD_{620} . Содержание пигментов в биомассе рассчитывали по формулам, представленным в работе [11, 12].

Результаты и их обсуждение

При отборе продуктивных форм цианобактерии оценивали по параметрам: скорость роста и сухой вес. При культивировании клеток цианобактерии

нобактерий *Spirulina platensis* ZBK и *Spirulina platensis* CALU 532 начальная концентрация клеток составила 0,4 г/л сухой биомассы.

Изучение динамики скорости роста коллекционных штаммов цианобактерий показало, что в лабораторных условиях средние коэффициен-

ты прироста клеток на 6-е сутки культивирования для штамма *Spirulina platensis* ZBK составило 0,11, тогда как для штамма *Spirulina platensis* CALU 532 это показатель равен 0,26.

Результаты скорости роста клеток цианобактерии спирулины отражены в рисунке 1.

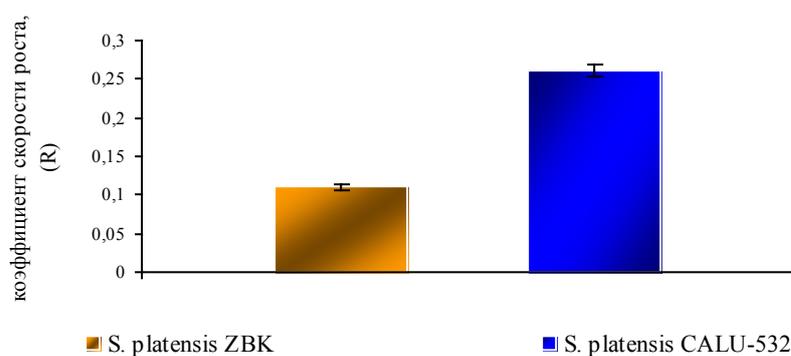


Рисунок 1 – Коэффициенты скорости роста клеток цианобактерий спирулины

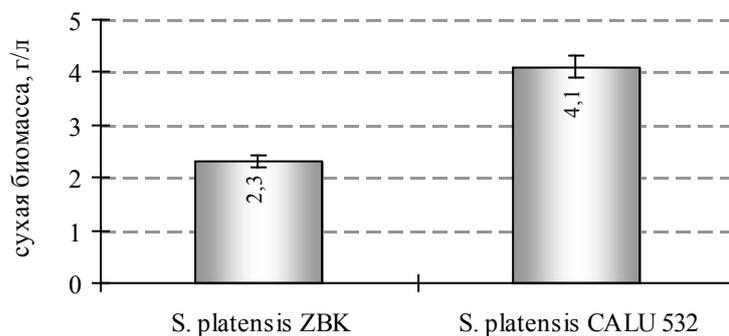


Рисунок 2 – Накопление сухой биомассы штаммов цианобактерии спирулины

На 6-е сутки культивирования получена сухая биомасса штамма цианобактерии *Spirulina platensis*, которая в дальнейшем анализировалась по пигментному составу. Количество сухой биомассы цианобактерии *Spirulina platensis* CALU 532 составила при этом – 4,1 г/л, а для *Spirulina platensis* ZBK этот показатель равен 2,3 г/л (рис. 2).

Таким образом, изучение продуктивности коллекционных штаммов показало, что штамм *S. platensis* CALU 532 превышает штамм *S. platensis* ZBK по удельной скорости роста клеток и по выходу сухой биомассы.

Учитывая тот факт, что многие пигменты цианобактерии *S. platensis* являются антиоксидантами и оказывают иммуномодулирующие и иммуностимулирующее действие на человека и лабораторных животных, нами было проведено изучение пигментного состава биомассы коллекционных штаммов *S. platensis* CALU 532 и ZBK.

При определении общего содержания каротиноидов и β -каротина в клетках спирулины выявлено, что в сухой биомассе *S. platensis* ZBK содержится 0,58 мг/г каротиноидов и 0,33 мг/г β -каротина, тогда как в варианте *Spirulina pla-*

tensis CALU 532 эти цифры составят 0,77 мг/г и 0,45 мг/г, соответственно. Также было установлено, что биомасса коллекционного штамма *S. platensis CALU 532* отличается от биомассы штамма *S. platensis ZBK* повышенным содержанием фикоцианина на 5,3% и аллофикоцианина на 4,4% (табл. 1).

Повышенное содержание в биомассе коллекционного штамма *S. platensis CALU 532* целого ряда природных антиоксидантов (каротиноиды, β -каротин, фикоцианин и аллофикоцианин) позволяет предположить что она, в отличие от био-

массы штамма *S. platensis ZBK*, будет обладать более сильным антиоксидантным действием. Кроме этого, учитывая ее высокую продуктивность, можно отметить перспективность ее использования в качестве источника биологически активных веществ.

Таким образом, выявленные отличия по продуктивности и накоплению биоактивных веществ в составе клеток *S. platensis CALU 532* позволяют рекомендовать ее для дальнейшего использования в областях биотехнологии и др. отраслях.

Таблица 1 – Содержание пигментов в биомассе штаммов *Spirulina platensis*

Варианты	Фикобилипротеины, %		Пигменты (мг/г)	
	фикоцианин	аллофикоцианин	каротиноиды	β -каротина
<i>S. platensis ZBK</i>	7,0 \pm 0,1	5,3 \pm 0,08	0,58 \pm 0,02	0,33 \pm 0,01
<i>S. platensis CALU 532</i>	12,3 \pm 0,5	9,7 \pm 0,3	0,77 \pm 0,03	0,45 \pm 0,01

Выводы

Изучена продуктивность и пигментный состав биомассы коллекционных штаммов цианобактерии *Spirulina platensis CALU 532* и *Spirulina platensis ZBK-1*.

Установлено, что штамм *S. platensis CALU*

532 превышает штамм *S. platensis ZBK* по удельной скорости роста клеток и по выходу сухой биомассы.

Определено, что общее содержание фикобилипротеинов, хлорофилла и каротиноидов выше у штамма *S. platensis CALU 532*, в отличие от штамма *S. platensis ZBK*.

Литература

- 1 Valko M. et. al. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer // Chem Biol Interact. – 2006. -Vol. 160, №1. – P.1-40.
- 2 Yan Y., Walsh N. Antioxidant and antiproliferative activities of extracts from a variety of edible seaweeds // Food and Chemical Technology. – 2006. – №4. – P.1144-1150.
- 3 Abd El-Baky H. et. al. *Spirulina* species as a source of carotenoids and α - tocopherol and its anticarcinoma factors // Biotechnology. – 2003. – № 3. – P. 222-240.
- 4 Abd El-Baky H. et. al. Production of carotenoids from marine microalgae and its evaluation as safe food colorant and lowering cholesterol agent // Journal of Agriculture and Environmental Science. –2007. -Vol. 6, № 1. – P. 792-800.
- 5 Paiva S., Russell R. Beta-carotene and other carotenoids as antioxidants // J Am. Coll. Nutr. – 1999. -Vol. 18, №5. – P. 426-433.
- 6 Belay A. The potential Application of *Spirulina (Arthrospira)* as nutritional and therapeutic supplement in health management // J. Amer. Nutraceutical Assoc. – 2002. - №2. – P. 27 - 49.
- 7 Bhat V., Madyastha K. Scavenging of peroxy nitrite by phycocyanin and phycocyanobilin from *Spirulina platensis* // Biochemical and Biophysical Research Communications. – 2001. – №2. – P. 262 -266.
- 8 Чесноков В.А. Массовое культивирование одноклеточных водорослей /В.А. Чесноков, В.В. Пиневиц, Н.Н. Верзилин // Сельскохозяйственное северо-западной зоны. – 1959. – № 12.
- 9 Брянцева Ю.В., Лях А.М., Сергеева А.В. Расчет объемов и площадей поверхности одноклеточных водорослей Черного моря // Севастополь: Препр. ИнБЮМ НАН Украины – 2005. – 25 с.
- 10 Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. Protein measurement with Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. - 1951. -Vol. 193, №1. - P. 265-275.

11 Dere Ş., et.al. Spectrophotometric determination of chlorophyll a, b and total carotenoid contents of some algae species // Tr. J. of Botany. -1998. -Vol. 22. -P. 13-17.

12 *Tandeau de Marsac N.* [34] Complementary chromatic adaptation: physiological conditions and action spectra // In: Packer L., Glazer N, editors. Methods in enzymology. – San Diego: Acad. Press. – 1988. – V.167. – P.318 – 328.

References

1 Valko M. et. al. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer // Chem Biol Interact. – 2006. -Vol. 160, №1. – P.1-40.

2 Yan Y., Walsh N. Antioxidant and antiproliferative activities of extracts from a variety of edible seaweeds // Food and Chemical Technology. – 2006. – №4. – P.1144-1150.

3 Abd El-Baky H. et. al. *Spirulina* species as a source of carotenoids and α - **tocopherol and its anticarcinoma factors** // Biotechnology. – 2003. – № 3. – P. 222-240.

4 Abd El-Baky H. et. al. Production of carotenoids from marine microalgae and its evaluation as safe food colorant and lowering cholesterol agent // Journal of Agriculture and Environmental Science. –2007. -Vol. 6, № 1. – P. 792-800.

5 Paiva S., Russell R. Beta-carotene and other carotenoids as antioxidants // J Am. Coll. Nutr. – 1999. -Vol. 18, №5. – P. 426-433.

6 *Belay A.* The potential Application of *Spirulina (Arthrospira)* as nutritional and therapeutic supplement in health management // J. Amer. Nutraceutical Assoc. – 2002. - №2. – P. 27 - 49.

7 Bhat V., Madyastha K. Scavenging of peroxynitrite by phycocyanin and phycocyanobilin from *Spirulina platensis* // Biochemical and Biophysical Research Communications. – 2001. – №2. – P. 262 -266.

8 Shesnokov V. A. Mass cultivation of unicellular of algae / V.A. Shesnakov, V. V. Pinevish, N. N Verzilin // Agricultural north west zone. – 1959. – № 12.

9 Brynseva Y.V., Lyh A.M., **Sergeeva A.V. Calculation of volume and surface square of unicellular of algae of Black Sea** // Sevastopol: Prepr. InBYM HAS Ukraine – 2005. – 25 p.

10 Lowry O.H., Rosebrough N.J., Farr A.L., Randall R.J. Protein measurement with Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. - 1951. -Vol. 193, №1. - P. 265-275.

11 Dere Ş., et.al. Spectrophotometric determination of chlorophyll a, b and total carotenoid contents of some algae species // Tr. J. of Botany. -1998. -Vol. 22. -P. 13-17.

12 *Tandeau de Marsac N.* [34] Complementary chromatic adaptation: physiological conditions and action spectra // In: Packer L., Glazer N, editors. Methods in enzymology. – San Diego: Acad. Press. – 1988. – V.167. – P.318 – 328.