

На основании проведенных экспериментов обоснован выбор сырья для приготовления продуктов (хрустящие хлебцы, биохлеб «Минус аппетит») повышенной питательной ценности с лечебно-профилактическими свойствами функционального назначения – гомогенизированные листья стевии. Разработана технология приготовления продуктов, проведена сравнительная характеристика органолептических и некоторых физико-химических показателей образцов, выявлены оптимальные варианты добавки.

#### Литература

- 1 Akula Ramakrishna, Gokare Aswathanarayana R. Diterpene Sweeteners (Steviosides), - Natural Products.- 2013. - P. 319-320.
- 2 Katarina L., Maja L., Irena J., Rajka B. Sensory Evaluation of the Strawberry Flavored Yoghurt with Stevia and Sucrose Addition // Croatian Journal of Food Technology, Biotechnology and Nutrition. – 2013. - № 7. - P.39-43.
- 3 Alison Weber, Sharareh Hekmat The Effect of Stevia rebaudiana on the Growth and Survival of Lactobacillus rhamnosus GR-1 and Sensory Properties of Probiotic Yogurt. - Journal of Food Research. -2013. - Vol. 2. – N. 2. - P. 136-143.
- 4 Хасиев Х.Х., Кулажанов К.С., Витавская А.В., Абдели Д.Ж. «Живая» пища и зерновой хлеб спасут население планеты - А.: ТОО «Алматы принт».- 2012. – С. 416.
- 5 Кенжебаева Ш.К., Витавская А.В., Сарсенбаев Б.А., Зельцер М.Е., Чоманов У.Ч., Баймуханова Д.Б.// Сухая смесь для приготовления напитка «Антидиабет-С», патент, - № 35657 от 04.09.2000.
- 6 Кенжебаева Ш.К., Витавская А.В., Сарсенбаев Б.А., Чоманов У.Ч., Баймуханова Д.Б. Зерновой продукт «Алтын жент», патент, - № 35640 от 04.09.2000.
- 7 Кенжебаева Ш.К., Витавская А.В., Сарсенбаев Б.А., Чоманов У.Ч., Баймуханова Д.Б. Способ приготовления напитка «Алтын боза», патент - № 35606 от 04.09.2000.

УДК 579:222

С.А. Джокебаева\*, Т.А. Карпенюк, С.Б. Оразова  
НИИ проблем биологии и биотехнологии КазНУ им. аль-Фараби, г. Алматы, Казахстан  
\*e-mail: [Saule.Jokebayeva@kaznu.kz](mailto:Saule.Jokebayeva@kaznu.kz)

#### Оптимизация среды культивирования диатомовой водоросли *Anomoeoneis elliptica* Zakrz. для накопления экономически важных метаболитов

Диатомовые микроводоросли являются перспективным объектом биотехнологии, т.к. липиды богаты ценными полиненасыщенными жирными кислотами. Определены питательные среды, обеспечивающие высокую интенсивность процессов роста, фотосинтеза и накопления экономически важных метаболитов *A.elliptica*. Установлено, что при росте на среде Chu10 в клетках диатомеи накапливается около 70% липидов. При росте на этой среде в клетках диатомеи накапливается белка 19,2%.

**Ключевые слова:** диатомеи, рост, пигменты, белок, липиды.

S.A. Dzhokebaeva, T.A. Karpenyuk, S.B. Orazova

#### Accumulation of economically important metabolites of diatoms *Anomoeoneis elliptica* Zakrz. growing on various nutrient media

The accumulation of economically important metabolites *A.elliptica* depends on the medium. We defined culture media, providing high intensity of growth, photosynthesis and the accumulation of reserve substances. After cultivation on Chu 10 medium diatom cells accumulate approximately 70% lipids.

**Keywords:** diatoms, growth, pigments, proteins, lipids

С.А. Жөкебаева, Т.А. Карпенюк, С.Б. Оразова

#### *Anomoeoneis elliptica* Zakrz. диатомды балдырының культивирлеу ортасын экономикалық маңызды метаболиттерді жинақтау үшін оптимизациялау

Диатомды микробалдырлар липидтерінің құнды поликанықпаған май қышқылдарына бай болып келуіне байланысты биотехнологияның перспективті зерттеу объектілерінің бірі болып табылады. *A.elliptica* микробалдырының өсу процесі мен фотосинтез қарқындылығын және экономикалық маңызды метаболиттерді жинақтауын қамтамасыз ететін қоректік орта түрлері анықталды. Chu-10 қоректік ортасында өскен диатомея клеткаларында шамамен 70%-ға жуық липидтер жинақталатындығы белгілі болды. Осы аталған қоректік ортада өсірілген диатомея клеткасында 19,2% белок жинақталатындығы анықталды.

**Түйін сөздер:** диатомея, өсу, пигменттер, белок, липидтер.

Микроводоросли являются продуцентами разнообразных соединений, многие из которых имеют коммерческую ценность и производятся биотехнологическими методами [1]. В настоящее время в различных странах мира используются в массовых культурах более 40 видов микроводорослей. Из них 32 вида наиболее часто выращиваются для кормовых целей [2].

Одной из интереснейших групп микроводорослей являются диатомеи, которые широко распространены в морских и пресных водоемах. Диатомовые водоросли, хотя весьма разнообразны и широко представлены в природе, пока не нашли широкого применения в биотехнологии. Большинство исследований посвящено изучению накопления в клетках диатомей ценных полиненасыщенных жирных кислот (эйкозопентаеновой, докозогексаеновой кислоты и других), используемых как для фармацевтических целей, так и для применения в аквакультуре [3]. Большой интерес представляет также поиск видов, способных продуцировать значительные количества общих липидов для производства биодизельного топлива, аминокислот и антиоксидантов - для косметики, антибиотиков, и антипролиферативных агентов – для фармации [4, 5]. Однако отмечается, что результаты этих исследований не могут быть пока применены в производстве [6].

Биомасса из культуры диатомовых может использоваться для индикации и биоремедиации вод, загрязненных фосфором, азотом или тяжелыми металлами [7,8]. Намечаются подходы к использованию кремния из створок диатомовых в области нанотехнологий [9]. Конкурентоспособность биотехнологий по получению соответствующих продуктов из диатомовых водорослей будет зависеть от их себестоимости [6].

Для создания технологий получения целевых продуктов в производственных масштабах первостепенное значение имеет создание организму-продуценту условий максимально способствующих продукции нужных метаболитов. Известно множество составов питательных сред, позволяющих в определенной степени приблизить условия культивирования к природным [10]. Разработаны добавки к питательным средам, способствующие повышению накопления тех или иных продуктов у некоторых морских видов [11]. Однако чаще всего необходим индивидуальный подбор условий культивирования для стимуляции видоспецифичного синтеза.

Целью данной работы являлся подбор питательных сред для роста, накопления пигментов, белка и липидов солоноватоводной диатомовой водорослью *Anomoeoneis elliptica* Zakrz.

#### **Материалы и методы**

*Anomoeoneis elliptica* Zakrz выделен нами из проб, отобранных в водоемах Прибалхашья. Для таксономического определения предварительно готовили постоянные препараты, для чего осажденные центрифугированием клетки инкубировали в смеси концентрированных серной и азотной кислот при температуре 60°C в течение трех часов. Родовую и видовую принадлежность диатомеи устанавливали по определителю [12]. Культуру выращивали в конических колбах Эрленмейера, содержащих по 80 мл сред SAG [13], Cohn [14], Chu10 и Fitzgerald [15]. Перед инокуляцией посевного материала в колбы проводилось выравнивание плотности клеток во всех вариантах опыта. Продолжительность культивирования 7 суток при температуре 25±2°C и фотопериоде 16 ч свет/8 ч темнота. Концентрацию клеток в суспензиях определяли методом прямого счета в камере Горяева и косвенно - по определению поглощения клеточных суспензий при 420 нм с последующим пересчетом по калибро-вочному графику. Содержание пигментов определяли в ацетоновых вытяжках спектрофотометрически и рассчитывали по формулам [16]. Содержание белка в клетках определяли с реактивом Фолина [21]. Экстракцию липидов из клеток микроводорослей осуществляли по модифицированному методу М. Кейтс [17]. Повторность в опытах трехкратная.

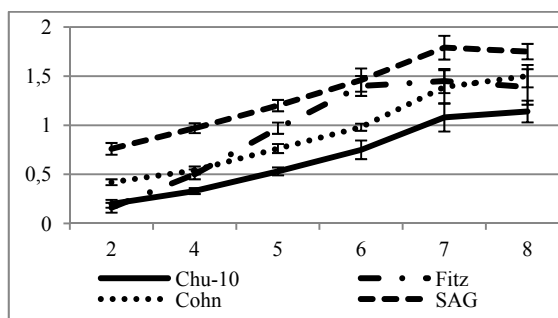
#### **Результаты и их обсуждение**

На рисунках 1 и 2 представлены морфология панцирей *A.elliptica* и ростовые кривые при культивировании на различных питательных средах.

При росте в условиях достаточного обеспечения питательными элементами диатомовые водоросли размножаются, в основном, путем вегетативного деления клеток на две дочерних. При этом происходит постепенное уменьшение их размера, который восстанавливается при половом размножении. Как показывает рисунок 2, наиболее благоприятна для роста *A.elliptica* среда SAG, в то время как среда Chu10 обеспечивает наиболее медленное увеличение концентрации клеток. При росте на среде Fitz клетки переходят в стационарную фазу роста на сутки раньше, чем в других вариантах.

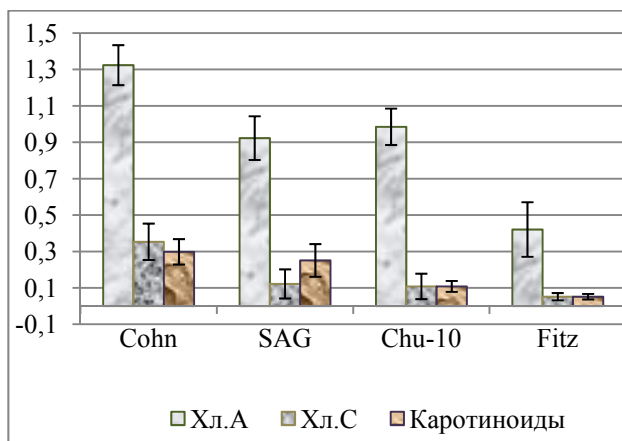


**Рисунок 1** – Морфология панцирей *Anotoneis elliptica* (x1000)



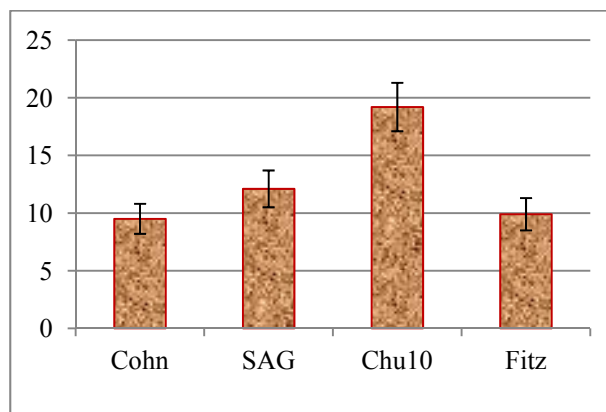
Ось ординат – концентрация клеток, 10<sup>6</sup> клеток/мл  
Ось абсцисс – сутки культивирования

**Рисунок 2** – Динамика роста *A. elliptica* на различных питательных средах



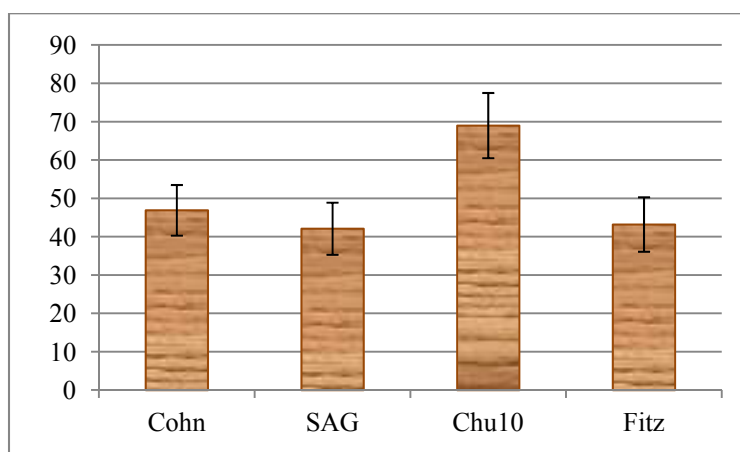
Ось ординат – пигменты, % к сухой массе

**Рисунок 3** – Содержание пигментов в клетках *A. elliptica*



Ось ординат – белок, % к сухой массе

**Рисунок 4** – Содержание белка в клетках *A. elliptica*



Ось ординат – липиды, % к сухой массе

**Рисунок 5** – Содержание липидов в клетках *A. elliptica* при росте на различных питательных средах

На рисунках 3, 4 и 5 представлены данные по определению содержания пигментов, белка, липидов в клетках изучаемой микроводоросли при росте на различных питательных средах.

Рисунок 3 показывает, что наибольшее содержание хлорофиллов А и С, а также каротиноидов обнаружено в клетках при выращивании диатомеи на среде Cohn. Эта среда гораздо богаче других, в ее составе содержится почвенная вытяжка, являющаяся источником гуматов и других органических компонентов. Следует также отметить, что содержание таких витаминов, как биотин, В<sub>12</sub> в среде Cohn значительно выше, чем в среде SAG.

Накопление запасных веществ (белка и липидов) происходит лучше при замедленных темпах деления, которые обеспечиваются при культивировании на среде Chu10. При росте на этой среде в клетках диатомеи накапливается белка 19,2±2,1%, что вдвое больше, чем на наиболее богатой по составу среде Cohn. Содержание липидов так же больше при выращивании этой водоросли на среде Chu10 и составляет 69,0±8,5%, что статистически достоверно превышает величины, определенные в других вариантах.

Таким образом, в результате проведенной работы установлено, что накопление экономически важных метаболитов *A.elliptica* зависит от вида питательной среды. Определены питательные среды, обеспечивающие высокую интенсивность процессов роста, фотосинтеза и накопления запасных веществ. При росте на среде Chu10 в клетках диатомеи накапливается около 70% липидов.

#### Литература

- 1 Putz O., Gross W. Valuable products from biotechnology of microalgae//Appl.Microbio.Biotechnol. - 2004. - Vol.65. - P. 635-648.
- 2 De Pauw N., Persone G. Microalgae in aquaculture. In: Microalgal biotechnology. - Cambridge: Univ.Press. - 1988. - P. 197-221.
- 3 Adarme-Vega T.C., Lim D.K.Y., Timmins M., Vernen F. et al. Microalgal biofactories: a promising approach towards sustainable omega-3 fatty acid production // Microbial Cell Factories. – 2012. - № 11. - P. 96-106.
- 4 Lee S.G., Karawita R., Affan A., et al. Potential of benthic diatoms *Achnanthes longiceps*, *Amphora coffeaeformis* and *Navicula sp.* (*Bacillariophyceae*) as antioxidant sources // Algae. - 2009. - Vol. 24, № 1. - P. 44-55.
- 5 Andrianasolo E.H., Haramaty L., Vardi A., Whiteet E. al. Apoptosis-inducing galactolipids from a cultured marine diatom *Phaeodactylum tricorutum* // J. Nat. Prod. - 2008. - Vol. 25. - № 5. - P. 885–890.
- 6 Lebeau T., Robert J.M., Diatom cultivation and biotechnologically relevant products. Part II: Current and putative products // Appl. Microbiol. Biotechnol. -2003. - Vol. 60, №6. - P. 624-632.
- 7 Tantanararit C., Englande A.J., Babel S. Nitrogen, phosphorus and silicon uptake kinetics by marine diatom *Chaetoceros calcitrans* under high nutrient concentrations // J. Exp. Marine Biol. and Ecol. - 2013. - Vol. 446. - P. 67-75.
- 8 Anantharaj K., Govindasamy C., Natanamurugaraj G., Jeyachandran S. Effect of heavy metals on marine diatom *Amphora coffeaeformis* (Agardh. Kutz) // Global journal of environmental research. - 2011. - Vol. 5. - № 3. - P. 112-117.
- 9 Jamali A.A., Akbari F., Ghorakhlu M. M., de la Guardia M., et.al. Applications of diatoms as potential microalgae in nanobiotechnology // BioImpacts. - 2012. - Vol. 2. - P. 83-89.
- 10 Supriya G., Ramachandra T.V. Chronicle of marine diatom culturing techniques // Ind. journ. of Fund. and Applied Life sciences. - 2011. - Vol. 1, № 3. – P. 282-294.
- 11 Mohan N., Rajaram M.G., Baskara Voopathy A., Rengasamy R. Biomass and lipid production of marine diatom *Amphiprora paludosa* W.Smith. at different nutrient concentrations // J. Algal Biomass Utilization. - 2012. - Vol. 3, №4. - P. 52-59.
- 12 Забелина М.М., Киселев И.А., Прошкина-Лавренко А.И., Шешукова В.С. Диатомовые водоросли. - М.: Советская наука. - 1951. - 618 с.
- 13 Guillard R.R.L., Lorenzen C.J. Yellow green algae with chlorophyllide c // J. Phycol. - 1972. - Vol. 1, №4. - P.10-14.
- 14 Cohn S.A., Pickett-Heaps J.D. The effects of colchicine and dinitrophenol on the in vivo rates of anaphase A and B in the diatom *Surirella* // Eur. J. Cell. Biol. – 1988. - P. 523-530.
- 15 Сиренко Л.А., Сакевич А.И., Осипов Л.Ф. Методы физиолого-биохимического исследования водорослей в гидробиологической практике. - Киев: «Наукова думка», 1975. - 245 с.
- 16 Jeffrey S.W., Humphrey G.F. New spectrophotometric equations for determining chlorophylls a, b, c<sub>1</sub> and c<sub>2</sub> in higher plants, algae and natural phytoplankton // Biochem. Pflanz. - 1975. - № 167. - P. 191-194.
- 17 Кейтс М. Техника липидологии. - М.: Мир, 1975. - 234 с.