

МИНИСТЕРСТВО СЕЛЬСКОГО ХОЗЯЙСТВА РФ

ФЕДЕРАЛЬНОЕ АГЕНТСТВО ПО РЫБОЛОВСТВУ

**ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ НАУЧНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ
“АЗОВСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ РЫБНОГО ХОЗЯЙСТВА”
(ФГБНУ «АЗНИИРХ»)**



АКТУАЛЬНЫЕ ПРОБЛЕМЫ АКВАКУЛЬТУРЫ В СОВРЕМЕННЫЙ ПЕРИОД

МАТЕРИАЛЫ МЕЖДУНАРОДНОЙ НАУЧНОЙ КОНФЕРЕНЦИИ

Г. РОСТОВ-НА-ДОНУ

28.09–02.10.2015 Г.

**Ростов-на-Дону
2015**

AGROMETEOROLOGICAL APPROACH APPLICATION TO FORECAST THE AQUACULTURE FARMS YIELDS

L.A. Gayko

V.I. Il'ichev Pacific Oceanological Institute FEB RAS, Vladivostok, Russia, gayko@yandex.ru

Considered are the problems of origination of a new concept of agricultural meteorology – marine climatology aimed at informational support of sea farming. It is ascertained, that existing techniques of the spawn productivity forecast have empirical character. Time of paradigm change has come - empirical approach should be replaced by methodology based on modeling cause-and-effect relationships between hydrometeorological conditions and sea-farming efficiency.

УДК: 582.232:57.018.6

ВЛИЯНИЕ ТЕМПЕРАТУРЫ ЭКСТРАГЕНТА НА ИЗВЛЕЧЕНИЕ С-ФИКОЦИАНИНА ИЗ СПИРУЛИНЫ

Р.Г. Геворгиз, Н.М. Береговая

*Институт морских биологических исследований им. О.А. Ковалевского, Россия,
Севастополь, r.gevorgiz@yandex.ru*

Разработаны биохимические основы получения водного экстракта С-фикоцианина, пищевого красителя и мощного антиоксиданта, из микроводоросли спирулины *Spirulina platensis* (Nordst.) Geitler. Определена оптимальная температура экстрагента и время экстракции. Разработанный метод “горячей” экстракции С-фикоцианина может быть использован в качестве экспресс-метода определения концентрации пигмента в полевых условиях.

Введение

Фикобилипротеины (ФБП) являются наиболее ценными составляющими биомассы спирулины, поскольку широко применяются в медицине, в фармакологии, а также в цитометрии и пищевой промышленности [1,8,10,12]. С-фикоцианин и аллофикоцианин являются водорастворимыми пигментами, поэтому из биомассы спирулины ФБП экстрагируют водой или водными растворами. На основе растворимости ФБП в воде разработаны лабораторные методики определения фикоцианина и аллофикоцианина в биомассе спирулины [5,6], а также технологии получения ФБП в промышленных масштабах [12].

Казалось бы, простота извлечения фикобилиновых пигментов должна привести к разработке простых биотехнологий, которые позволят получать дешёвые продукты и препараты на основе ФБП. Однако, в реальности получение и хранение ФБП в промышленных масштабах связано с рядом трудностей: 1. ФБП крайне не устойчивы. Разлагаются на свету, при температурном воздействии, а также при длительном хранении; 2. Процесс полного экстрагирования требует достаточно больших объёмов воды и пониженных температур [3,4,5]; 3. ФБП имеют белковую природу, поэтому препараты подвержены бактериальному загрязнению; 4. Процесс полного извлечения ФБП из биомассы спирулины достаточно продолжителен и т.д.

Оптимальные условия для экстрагирования фикобилипротеинов из биомассы спирулины остаются не ясными. Кроме того, по-прежнему ключевым ограничением применения ранее разработанных способов извлечения ФБП в промышленности является скорость экстрагирования.

Цель данной работы – выявить оптимальные условия для максимального извлечения ФБП из биомассы спирулины с минимальными временными затратами. При этом определить влияние на полноту экстракции ФБП остаточной влажности биомассы спирулины и температуры экстрагента

Материалы и методы

Объектом исследования являлась культура *Spirulina platensis* штамм IBSS-31 из коллекции ИнБЮМ НАН Украины [2]. Культуру спирулины выращивали в полупромышленных бассейнах с рабочим объёмом суспензии 74 л, при температуре - 32 – 34 °С в квазинепрерывном режиме, при искусственном освещении лампой ДРЛ700. Средняя облучённость рабочей поверхности составляла 40 Вт/м². При культивировании использовали питательную среду Заррук. Для получения сырой массы спирулины суспензию фильтровали через газ с ячейёй 45 мкм. Затем полученную

пасту промывали дистиллированной водой (4 объема воды на 1 объем пасты) и высушивали в сушильном шкафу при температуре 38 °С. Высушенный материал тщательно растирали в фарфоровой ступке, затем 10-15 мг сухого растертого порошка спирулины заливали нагретым фосфатным буфером (рН=7) в температурном диапазоне 10 - 90 °С. Пробы с температурой фосфатного буфера более 30 °С медленно (в течение 1 часа) остужали до 30 °С и проводили измерения спектров экстрактов на регистрирующем спектрофотометре СФ2000. Расчет концентрации ФБП осуществляли по стандартной методике [12].

Для выявления влияния остаточной влажности на полноту экстракции пигмента сырую биомассу спирулины делили на равные части, закладывали в сушильный шкаф при 55 °С. Через равные промежутки времени (от 1 часа до 1 суток) биомассу извлекали из шкафа и проводили измерение концентрации С-фикоцианина по стандартной методике.

Результаты и обсуждение

Основным препятствием при экстрагировании ФБП из клеток микроводорослей является прочная связь фикобилисом с фотосистемой II [7,9] и слабая проницаемость клеточной оболочки [3,8]. По сути, задача извлечения ФБП сводится к отщеплению фикобилисом от тилакоидной мембраны и разрушению клеточной оболочки для лучшего перехода пигментов в водный раствор. В лабораторных условиях эта задача успешно решается посредством использования метода многократной холодной экстракции [12]. Для промышленных условий такой метод практически неприемлем из-за достаточно продолжительного процесса полной экстракции и загрязнения полученных растворов ФБП мелкодисперсной взвесью органелл, хлорофильными комплексами и пигментированными остатками разрушенной биомассы. Образующую взвесь невозможно отделить фильтрованием, также она не оседает на дно при длительном отстаивании. Поэтому для очистки ФБП растворов от подобных загрязнений необходимо в технологический процесс включать достаточно энергоёмкий этап центрифугирования при 7-10 тыс об/мин (более 5000 g), что в значительной степени повышает себестоимость ФБП.

Существенную роль на целостность клеточной стенки и степень экстрагирования ФБП играет доля воды (остаточная влажность) в биомассе после дегидратации. На основе данных, представленных на рисунке 1, можно с уверенностью считать, что остаточная влажность в процессе дегидратации биомассы несомненно влияет на высвобождение С-фикоцианина из клеток спирулины. С-фикоцианин полностью экстрагируется только при остаточной влажности не более 7 %. Обычно такой результат достигается при сушке сырой биомассы спирулины в открытой сушилке не менее 5-6 часов при температуре 55 °С (рис. 2).

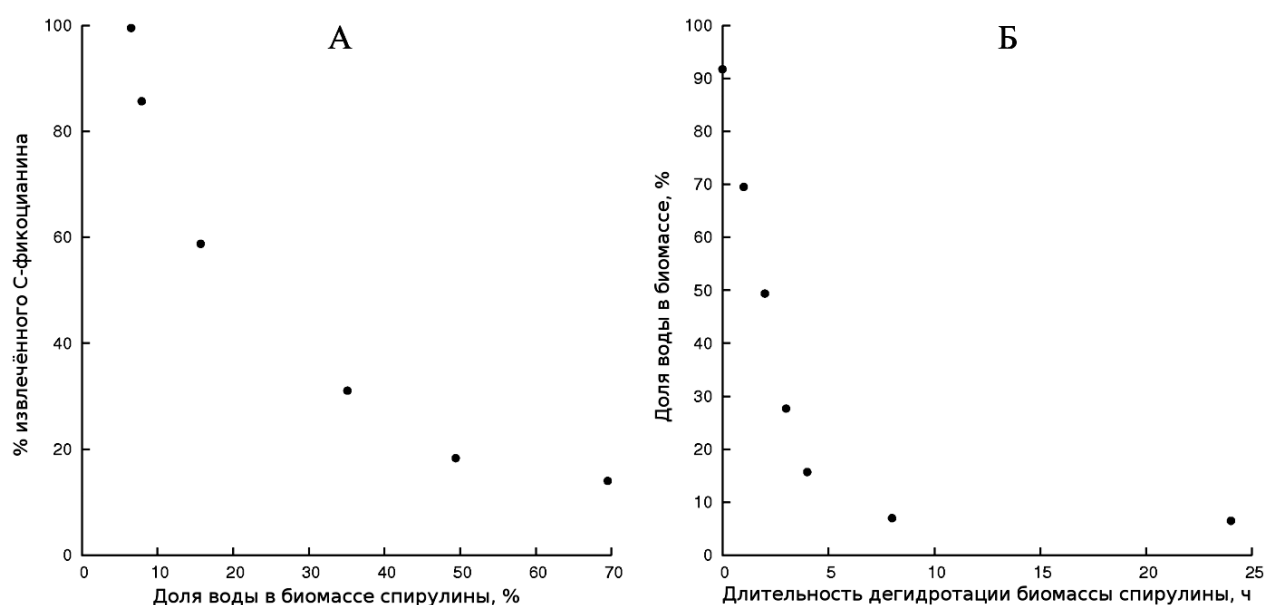


Рисунок 1 Влияние остаточной влажности на степень экстракции С-фикоцианина из биомассы спирулины (слева). Зависимость величины остаточной влажности от времени дегидратации биомассы спирулины при температуре 55 °С (справа)

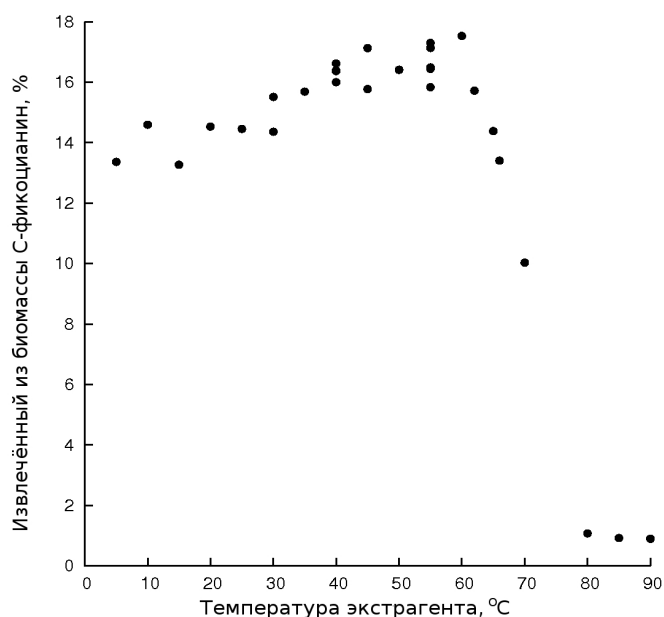


Рисунок 2. Степень экстракции С-фикоцианина из биомассы спирулины в зависимости от температуры экстрагента

Выявлено практически полное извлечение С-фикоцианина из биомассы спирулины происходит при температуре экстрагента 40 °С. При увеличении температуры до 60 °С и выше концентрация извлекаемого пигмента падает, что объясняется, очевидно, процессами разрушения, начинающимися в белковой части ФБП [3,4].

Заклучение.

Анализ полученных данных показывает, что при «горячей» экстракции временной интервал 30 минут является необходимым и достаточным. При меньшей экспозиции (15 минут) концентрация извлекаемого С-фикоцианина меньше в 1,5 раза. Таким образом, получаем значительный выигрыш во времени: 30 минут вместо 1,5-2 суток (по стандартной методике).

Оптимизация условий экстрагирования фикобилипротеинов должна сводиться:

- 1) к учету остаточной влажности в процессе дегидратации культуры (С-фикоцианин высвобождается из тиллакоидной мембраны только после уменьшения остаточной влажности в 3 раза и более, что наблюдается после 4 часов сушки при 45 °С, при 35 °С – в течение суток);
- 2) к повышению температуры экстрагента: метод «горячей экстракции» (45-50 °С) является эффективным и позволяет сократить время экстрагирования до получаса (вместо 1.5-2 суток по стандартной методике); потери концентрации извлекаемого С-фикоцианина по предлагаемой методике не происходит;

Список литературы

1. Бриттон Г. Биохимия природных пигментов. – М.: Мир, 1986. – 422 с.
2. Брянцева Ю. В. и др. Характеристика цианобактерии *Spirulina (Arthrospira) platensis* / Брянцева Ю. В., Дробецкая И. В., Харчук И. А. // Экология моря. – 2006. – 70. – С. 24–30.
3. Ефимов А.А. Обоснование технологии получения фикоцианина из синезелёных водорослей как пищевой добавки // Фундаментальные исследования. – 2007. – №11. – С. 80-82.
4. Ефимов А.А. Научное обоснование технологии рациональной переработки термофильных синезелёных водорослей Камчатки: Дис... канд. техн. наук: Специальность -- Технология мясных, молочных, рыбных продуктов и холодильных производств. - Петропавловск-Камчатский, 2007. - 178 с. - (ФГОУ ВПО «Камчат ГТУ»)
5. Методы физиолого-биохимического исследования водорослей в гидробиологической практике. - Киев: Наук. думка, 1975. - 247 с.
6. Первушкин С.В. и др. Количественное определение фикоцианина в биомассе спирулины / Первушкин С.В., Воронин А.В., Сохина А.А., и др. // Формация. - 2005. - Т. 50, no. 1. - С. 16-17.
7. Стадничук И.Н. Фикобилисомы. Биологическая химия (Итоги науки и техники ВИНТИ АН СССР). - М., 1991. - Т. 46. - 1-172 с.
8. Eriksen N.T. Production of phycocyanin—a pigment with applications in biology, biotechnology, foods and medicine // Appl Microbiol Biotechnol. - 2008. - Vol. 80. - P. 1–14.
9. Inoue N., et al. Effects of High-Temperature Treatments on a Thermophilic Cyanobacterium *Synechococcus vulcanus*

Известно, что ФБП при температурном воздействии разрушаются [12]. Однако, нами было замечено, что, находясь в клеточных структурах, ФБП в значительно меньшей степени подвержены разрушению при повышенных температурах. После кратковременного температурного воздействия на биомассу спирулины разрушение ФБП не происходит. Более того, посредством температурного воздействия («горячая» экстракция) время полного извлечения ФБП из биомассы сокращается до 30 минут. По-видимому, воздействие температуры приводит к отщеплению фикобилисом от фотосистемы II, что облегчает выход ФБП в раствор [9,10].

Для выявления оптимальной температуры и времени воздействия на биомассу с целью максимального извлечения ФБП методом «горячей экстракции» нами был проведён ряд экспериментов.

/ Inoue N., Emi T., Yamane Y., et. al. // Plant Cell. Physiol. – 2000. – V. 41, N 4: P.515-522

10. Hirata T., et.al. Antioxidant activities of phycocyanobilin prepared from *Spirulina platensis* / Hirata T., Tanaka M., Ooike M., et.al. // J. Appl. Phycol. – 2000. – 12, No. 3-5. – P.435-439.

11. MacColl R., Guard-Friar D. Phycobiliproteins. – Boca Raton, FL: CRC Press, 1987. – 218 p.

12. Vonshak A. *Spirulina platensis* (Arthrospira): Physiology, Cell – biology and Biotechnology // Taylor & Francis. – 1996. – 233 p.

INFLUENCE OF TEMPERATURE OF EXTRACTANT ON EXTRACTION OF C-PHYCOCIANIN FROM SPIRULINA PLATENSIS

R.G. Gevorgiz, N.M. Beregovaya

Institute of marine biological researches by O.A. Kowalewski, Russia, Sevastopol Biochemical bases of receipt of a C-phycocyanin water extraction from microalgae *Spirulina platensis* (Nordst.) Geitler what is known as a food dye and a powerful antioxidant are worked out. The optimal temperature of extractant and the time of extraction are certain. The worked out method of C-phycocyanin “hot” extraction can be used as an express-method of determination of pigment concentration in field terms.

УДК 639.372.82.03(262.5)

ОЦЕНКА СОСТОЯНИЯ ПРИРОДНОЙ ПОПУЛЯЦИИ И КУЛЬТИВИРОВАНИЕ ЧЕРНОМОРСКОЙ КАМБАЛЫ-КАЛКАНА В ИНБЮМ (ИМБИ): ДОСТИЖЕНИЯ, ОГРАНИЧЕНИЯ И ПЕРСПЕКТИВЫ

В.Е. Гирагосов, А.Н. Ханайченко, Т.В. Рауэн, Л.О. Аганесова, Ю.С. Баяндина, Д.Ю. Смирнов
**Институт морских биологических исследований им. А.О. Ковалевского РАН, Севастополь,
Россия, vitaly.giragosov@gmail.com**

Промысловый запас черноморского калкана находится в депрессивном состоянии в результате его чрезмерной эксплуатации. Массовое выращивание правильно метаморфизированной молоди и её выпуск в море после предварительной адаптации может способствовать пополнению природных популяций калкана. Однако индустриальное выращивание калкана с использованием отечественного опыта его культивирования могло бы стать рентабельной альтернативой промыслу.

Черноморская камбала-калкан (*Scophthalmus maeoticus*) – один из наиболее ценных объектов промысла и важный компонент экосистемы Чёрного моря. Состояние запаса калкана в Чёрном море и в частности в водах Российской Федерации оценивается как депрессивное, а объём вылова уже давно не удовлетворяет потребности рынка. Специализированная научная группа ФГБУН ИМБИ РАН (ранее ИнБЮМ НАНУ) проводит комплексные исследования биологии калкана в естественной среде обитания и в условиях искусственного выращивания. По результатам мониторинга состояния нерестового стада калкана на юго-западном шельфе Крыма (с 1988 г. по настоящее время) изучена изменчивость основных биологических характеристик половозрелых особей [9], систематизированы аномалии пигментации [5], исследованы особенности строения костного скелета [12], описаны и систематизированы внешние признаки заболеваний кожных покровов [10], оценено содержание хлорорганических соединений в тканях и органах калкана [11] и проведена оценка относительных уловов. Согласно результатам наших исследований на юго-западном шельфе Крыма относительные уловы калкана (в пересчёте на 1000 м капроновых сетей в 1 сут) значительно снизились (рис. 1).

Очевидно, что естественное воспроизводство уже не сможет обеспечить восстановление промыслового запаса калкана даже до уровня хотя бы середины XX в. Стратегия рациональной эксплуатации запаса калкана с учётом положений программы импортозамещения, в том числе увеличения объёма собственного производства морепродуктов должна предусматривать организацию искусственного разведения калкана с целью зарыбления прибрежных акваторий, а также товарного выращивания на специализированных аквакультурных предприятиях. Деликатесное качество мяса и высокая рыночная цена определяют перспективность искусственного выращивания калкана. Мировое промышленное производство атлантической камбалы тюрбо (*Scophthalmus maximus*), родственного черноморскому калкану вида, согласно данным ФАО, составило в 2013 г. суммарно около 80 тыс. т, что свидетельствует о высокой рентабельности этой отрасли морского рыбоводства, однако известные технологии культивирования молоди тюрбо не всегда целесооб-