

СРАВНЕНИЕ РАЗЛИЧНЫХ СПОСОБОВ ХРАНЕНИЯ ВОДНОГО ЭКСТРАКТА С-ФИКОЦИАНИНА МИКРОВОДОРОСЛИ *SPIRULINA PLATENSIS*

Рассматриваются различные способы хранения водного раствора С-фикоцианина, пигмента микроводоросли *Spirulina platensis* (Nordst) Geitler, имеющего широкое применение в фармакологии и пищевой промышленности. На основании полученных данных сделан вывод о предпочтительном хранении раствора С-фикоцианина в темноте при температуре 3 – 5°С при добавлении в качестве консерванта этанола (концентрация в растворе 20 %).

Сине-зеленая микроводоросль *Spirulina platensis* является популярным объектом биотехнологий благодаря способности синтезировать большое количество биологически активных веществ [3]. Одним из наиболее ценных веществ, синтезируемых микроводорослью, является пигмент С-фикоцианин, относящийся к классу фикобилипротеинов [4], широко применяемый в фармакологии и известный потребителю как мощный онкопротектор [6]. Известно, что при лечении и профилактике онкозаболеваний С-фикоцианин в несколько раз эффективнее β-каротина [6, 9]. Пигмент находит также применение как натуральный пищевой краситель [8]. С-фикоцианин, как и другие пигменты, является нестабильным: разлагается на свету, при температурном воздействии [2], во время длительного хранения, значительные потери пигмента происходят в течение года в сухих образцах водоросли [1]. При сравнительно невысокой концентрации пигмента в расчете на абсолютно сухой вес (в среднем, 4 – 11 %) [1, 8], в биотехнологии ставится вопрос о выделении С-фикоцианина в чистом виде, например, в кристаллической форме [7, 9] или в виде водного экстракта. Проблема разработки условий хранения водного экстракта С-фикоцианина при добавлении консерванта остается достаточно актуальной, принимая во внимание тот факт, что широкое применение С-фикоцианина в кристаллической форме лимитировано из-за достаточно высокой цены указанного способа выделения [7 - 9]. В этой связи нами была поставлена задача выявить оптимальные условия хранения водного экстракта С-фикоцианина при добавлении этанола различной концентрации в качестве консерванта.

Материал и методы. Объектом исследования являлась культура *Spirulina platensis* штамм IBSS-31 из коллекции ИнБИОМ НАН Украины [3]. Культуру данной микроводоросли выращивали в прямоугольных бассейнах в квазинепрерывном режиме: при суточном обмене 10 %, поверхностной освещенности культуры – 40 Вт/м², температуре – 22 – 24°С. Для культивирования использовали среду Заррука [9]. Биомассу *S. platensis* промывали проточной водой и высушивали в сушильном шкафу при температуре 55°С. Затем 3 г сухого порошка спирулины заливали небольшим количеством дистиллированной воды, разливали в несколько чашек Петри, двукратно замораживали и размораживали с целью разрушения клеточных оболочек и быстрого извлечения С-фикоцианина. Гомогенат центрифугировали при 3000 об/мин на лабораторной центрифуге ОПН-3, центрифугаты сливали вместе и измеряли объем. Оптическую плотность экстрактов, предварительно десятикратно разведенных, промеряли на СФ – 16 на длинах волн 620 и 750 нм по стандартной методике [9]. Далее образцы экстрактов доводили 70 %-ным этанолом до конечной концентрации этанола в растворе соответственно 10, 20, 30 и 40 %. Хранение экстрактов осуществляли в следующих вариантах: в темноте при температуре 3 – 5°С; в темноте при температуре 15 – 17°С и в условиях освещенности 300 - 500 Лк при температуре 15 – 17°С. Контролем служил экстракт С-фикоцианина без добавления консерванта (хранение при температуре 3 – 5°С в темноте).

Результаты. Полученные нами данные по разложению С-фикоцианина в различных условиях представлены на рис. 1, 2, 3. Из рис. 1 - 3 видно, что разложение пигмента С-фикоцианина при концентрации этанола в экстракте 40 % (15 – 17°С на свету) происходило за наиболее короткий промежуток времени (5 дней), в 30 %-ном растворе – за 7 дней, в то время как в 20 – и 10 %-ном растворе этанола концентрация С-фикоцианина уменьшалась всего лишь от 1 до 0,2 относительных единиц (отн. ед.) за 13 дней (см. рис. 1).

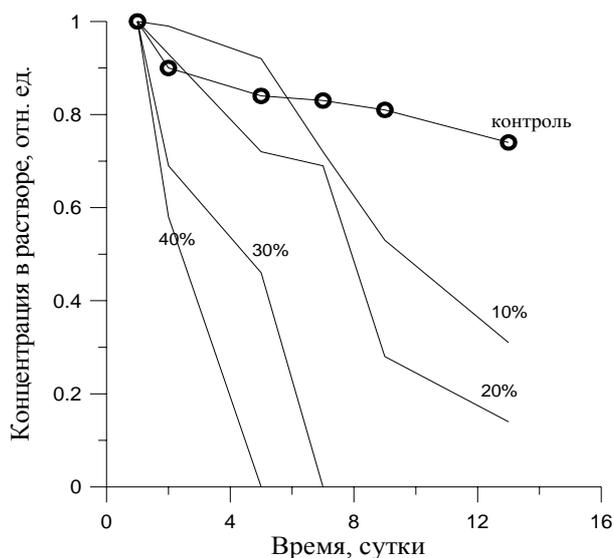


Рисунок 1. Разложение С-фикоцианина в растворах этанола различной концентрации при хранении на свету
Figure 1. Decomposition of C-phycoerythrin in different concentration ethanol solutions during keeping on light

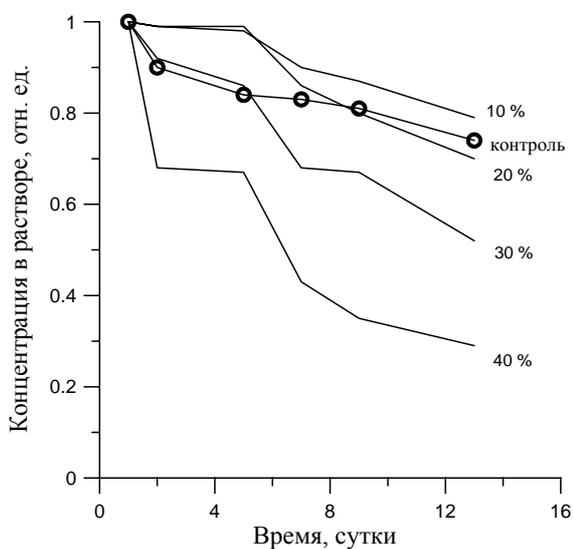


Рисунок 2. Разложение С-фикоцианина в растворах этанола различной концентрации при хранении в темноте
Figure 2. Decomposition of C-phycoerythrin in different concentration ethanol solutions during keeping at darkness

При температуре 15 – 17°С в темноте пигмент сохранялся несколько лучше: в 40 %-ном этаноле концентрация падала до 0,2 отн. ед., в 30 %-ном этаноле – до 0,4 отн. ед. за 13 дней; в 20 %-ном и 10 %-ном этаноле за такой же временной интервал концентрация С-фикоцианина снизилась в 1,4 и 1,25 раза соответственно (рис. 2). Наиболее благоприятным, как видно из рисунков, было хранение С-фикоцианина в темноте, при температуре 3 – 5°С (рис. 3). При концентрации этанола в экстракте 10 % и

20 % при вышеуказанном режиме хранения изменения оптической плотности были незначительными: от 1 до 0,9 отн. ед. в течение 13 суток. Сходными были изменения концентрации С-фикоцианина в пробах с аналогичными концентрациями этанола, находящимися на хранении при температуре 15 – 17°С в темноте (изменения от 1 до 0,85 – 0,79 отн. ед.). Оптическая плотность контрольной пробы изменялась от 1 до 0,8 отн. ед. Экстракты С-фикоцианина с концентрацией этанола 10 % и 20 % при хранении в холодильнике (температура 3 – 5°С) практически не меняли окраску в течение 2 месяцев. Однако, концентрация этанола 10 % в растворе С-фикоцианина является недостаточной для подавления микрофлоры, поэтому предпочтительнее остановиться на конечной концентрации этанола 20 %. Быстрое разрушение пигмента в 30 – и 40 %-ном растворах этанола можно объяснить, вероятно, процессами денатурации, которые, очевидно, происходят в протеиновой части С-фикоцианина при указанных концентрациях этанола.

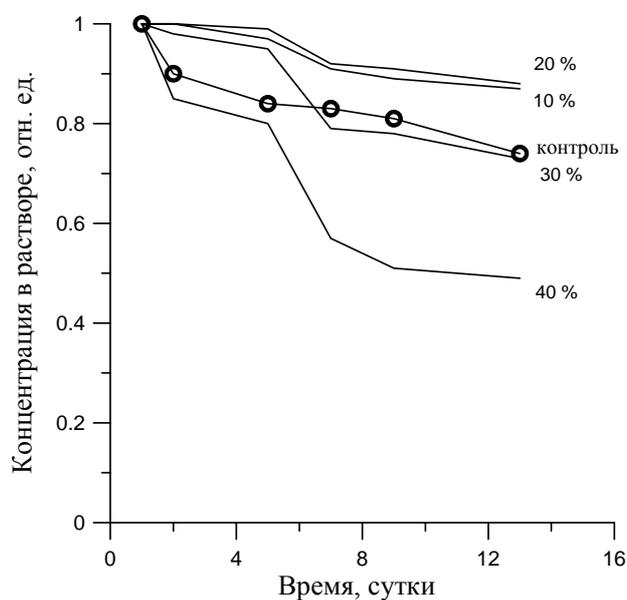


Рисунок 3. Разложение С-фикоцианина в растворах этанола различной концентрации при хранении на холоде
Figure 3. Decomposition of C-phycocyanin in different concentration ethanol solutions during keeping at darkness

Заключение. На основании полученных результатов можно сделать вывод о предпочтительном хранении водного экстракта С-фикоцианина в темноте при температуре 3 – 5°С при добавлении этанола конечной концентрации 20 % в пробе в качестве консерванта. Допустимыми также являются условия хранения С-фикоцианина при температуре 15 – 17°С в темноте при конечной концентрации этанола в растворе 20 %. Экономичность описанного способа выделения и хранения водного раствора С-фикоцианина могут обеспечить широкое применение его в медицинской практике.

1. *Береговая Н.М.* Изменение параметров химического состава сине-зеленой водоросли *Spirulina platensis* при длительном хранении // 1X Юбилейная междунар. конф. и дискус. Науч. Клуб Новые информац. Технологии в медицине и экологии = New Information Technology in Medicine and Ecology. - Украина, Крым, Ялта - Гурзуф. (1 - 10 июня). – 2002. - С. 64.
2. *Бриттон Г.* Биохимия природных пигментов. - М.: Мир, 1986. - 422 с.
3. *Брянцева Ю. В., Дробецкая И. В., Харчук И. А.* Характеристика цианобактерии *Spirulina (Arthrospira) platensis* // Экология моря. - 2006. - Вып.70. - С. 24 - 30.
4. *Стаднийчук И. Н.* Фикобилипротеины. - Биологическая химия (Итоги науки и техники ВИНТИ АН СССР). - М., 1990. - 40. - 196 с.
5. *Becker E. W.* Development of Spirulina Research in a Developing Country India / Spirulina – Algae of Life. / Bul. Ist. Oceanogr. - 1993. - NS, No. 12. - P. 141 - 155.

6. Belay A. The Potential Application of *Spirulina (Arthrospira)* as Nutritional and Therapeutic Supplement in Health Management / J. Amer. Nutraceutical Assoc. - 2002. -15, No 2. - P. 27 - 49.
7. Cysewski G. R. Feeds, foods and pigments from *Spirulina* / J. PHYCOL. - 1992. -28, No. 3 suppl. - P.12.
8. Hackert M. L., Abad-Zapatero C., Stevens S. E., Ir., Fox J. L. Crystallization of C-phycoerythrin from the marine blue-green algae *Agmenellum quadruplicatum* / Mol. Biol. - 1977. - 111, No. 3. - P. 365 - 369.
9. Vonshak A. *Spirulina platensis (Arthrospira)*: Physiology, Cell – biology and Biotechnology. - Taylor & Francis. - 1996. - 233 p.
10. Wang-Guangoe, Zhou-Baicheng, Zeng-Chengkui. Purification of C-phycoerythrin from *Spirulina platensis* and R-phycoerythrin from *Polysiphonia urceolata* and determination of their molar extinction coefficient / MAR. – SCI. – HAIYANG – KEXUE. - 1996. - No. 1 - P. 52 - 55.

Институт биологии южных морей НАН Украины,
г. Севастополь

Получено 14.09.2005

N. M. BEREGOVAYA, I. N. GUDVILOVITCH

**COMPARISON OF DIFFERENT WAYS OF C-PHYCOERYTHRIN WATER EXTRACT FROM
MICROALGAE *SPIRULINA PLATENSIS***

Summary

Different ways of keeping of C-phycoerythrin water extract from microalgae *Spirulina platensis* (Nordst.) Geitler has been observed. The most acceptable way of keeping is in darkness with temperature 3 – 5°C adding 20 % ethanol as a conservant (the ways to compare were : keeping on light, at darkness, cold with adding 10 %, 30 % and 40 % ethanol).