

THE INFLUENCE OF GLYCINE ON THE PHOTOSYNTHETIC ACTIVITY OF THE MICROALGAE SPIRULINA PLATENSIS (GOM.) GEITL.

A. Kotinskyi, A. Saliuk, A. Yakovenko
National University of Food Technologies

Key words: Spirulina Glycine Accumulation of biomass Protein Pigments	ABSTRACT The usage of different organic sources of carbon and nitrogen leads to the change of microalgae's metabolic processes. It leads to the biochemical composition of microalgae and intensity of their growth changes by turn. Taking into account that spirulina is able to use some exogenous organic matters under certain conditions, we made a research about the effect of glycine as an organic source of nitrogen and carbon on the growth of spirulina. Application of glycine in a culture medium leads to intensification of photosynthetic processes in Spirulina. This works out at increasing accumulation of biomass, protein and pigments, particularly of phycocyanin, chlorophyll and carotins. Different concentration of exogenously brought glycine has a different effect on the biosynthetic processes in Spirulina, which also depending on the density of culture, in which glycine is brought in. The highest accumulation of biomass (1,4 g ADB/l) and protein (692 mg/g ADB) is observed while bringing in the culture medium of glycine in concentration 75 mg/l to the density of culture — 0,5 g ADB/l*. Bringing glycine in a culture medium at concentration — 150 – 225 mg/l to the density of culture 0,5 – 0,8 g ADB/l allows to get the highest quantity of phycocyanin in biomass of Spirulina — 211 – 230 mg ADB/l. The highest quantity of chlorophyll and carotins in biomass of Spirulina can be achieved by adding glycine in a culture medium with concentration no less than 300 mg/l to the density of culture 0,5 – 0,8 g ADB/l. * — <i>gramm of absolutely dry biomass per litre (g ADB/l).</i>
Article history: Received 02.01.2013 Received in revised form 18.02.2013 Accepted 15.03.2013	
Corresponding author: E-mail: npnuht@ukr.net	

ВПЛИВ ГЛІЦИНУ НА ФОТОСИНТЕТИЧНУ АКТИВНІСТЬ МІКРОВОДОРОСТІ SPIRULINA PLATENSIS (GOM.) GEITL

А.В. Котинський, А.І. Салюк, А.А. Яковенко
Національний університет харчових технологій

Екзогенне внесення гліцину у середовище культивування призводить до інтенсифікації фотосинтетичних процесів спіруліни, що виражається у збільшенні накопичення біомаси, білка та пігментів, зокрема фікоціаніну, хлорофілу і каротинів. Визначена залежність біосинтетичних процесів спіруліни від концентрації екзогенно внесеного гліцину та від того, при якій густині культури він вноситься.

Ключові слова: спіруліна, гліцин, накопичення біомаси, білок, пігменти.

У деяких синьо-зелених водоростей виявлена здатність використовувати на світлі органічні джерела вуглецю і азоту [1 – 4]. Про це свідчить у першу чергу різке збільшення чисельності водоростей при евтрофікації водоймищ. Ця фізіологічна особливість видів *Cyanophyta*, як і фототрофних бактерій, у різних представників водоростей неоднаково виражена, тобто ступінь її прояву може бути різною. Встановлено, що у синьо-зелених водоростей обмежений набір екзогенних органічних сполук, які вони здатні засвоювати та асимілювати яких змінюється за певних умов культивування. Так, наприклад, при додаванні деяких екзогенних органічних речовин на світлі покращує ріст синьо-зелених водоростей.

Використання різних органічних джерел вуглецю чи азоту призводить до зміни метаболічних процесів, що у свою чергу призводить до зміни як біохімічного складу мікробіодорості так і інтенсивності їх росту.

Серед мікробіодоростей особливе місце займає синьо-зелена мікробіодорість *Spirulina platensis* (далі спіруліна), яка порівняно з іншими мікробіодоростями має ряд переваг, і тому розглядається як найбільш перспективний біотехнологічний об'єкт [5].

Спіруліна містить фізіологічно збалансований і одночасно унікальний комплекс необхідних організму людини компонентів, в тому числі легко засвоюваний білок, всі незамінні амінокислоти, вітаміни, вуглеводи, широкий набір мікроелементів, поліненасичені жирні кислоти, пігменти тощо. Тому пошук нових стимуляторів для підвищення її продуктивності та покращення якості біомаси є вельми актуальним.

Серед основних елементів живлення, що впливають на продуктивність культури, вміст основних фотосинтетичних пігментів та білка є азот, фосфор та вуглець. Враховуючи дані про те, що спіруліна за певних умов здатна використовувати деякі екзогенні органічні речовини нами було проведено дослідження впливу гліцину, як органічного джерела азоту і вуглецю, на фотосинтетичну активність спіруліни.

Мета роботи полягала у вивченні впливу гліцину, як екзогенно внесеного органічного джерела вуглецю та азоту, на фотосинтетичну активність спіруліни.

Для досліджень використовували культуру ціанобактерії *Spirulina platensis* (Gom.) Geitl. штам ЛГУ-603, яку взято з колекції культур інституту Ботаніки ім. Холодного НАН України.

Процес культивування проводили у накопичувальному режимі на живильному середовищі Зарука у вертикальній трубчастій установці діаметром 8 см і об'ємом 2 л при постійному перемішуванні культурального середовища повітрям. В кожну установку вносили інокулят і живильне середовище у такій пропорції, щоб початкова густина культури в усіх культиваторах була однаковою — 0,20 – 0,23 г АСБ/л.

Освітленість культури на поверхні установки підтримували на рівні 8 кЛк, тривалість фотоперіоду складала 12 годин на добу. Температуру культурального середовища підтримували в межах від 26 до 28 °С.

Визначали вплив різних концентрацій гліцину (75, 150, 225, 300 мг/л), що вносили через різний час від початку культивування (таблиця), на інтенсивність росту та фотосинтетичну активність спіруліни.

Умови внесення гліцину

Час внесення гліцину, доба від початку культивування	Оптична густина культурального середовища в момент внесення гліцину, при $\lambda=590$ нм	Густина культури на момент внесення гліцину, г АСБ/л
2	0,55	0,2
7	1,45	0,5
14	2,70	0,8
21	3,50	1,0

Після внесення гліцину у культуральне середовище процес вирощування спіруліни продовжували протягом 7 діб.

В якості контролю була спіруліна, що культивувалася на середовищі Зарука без додавання гліцину.

Приріст біомаси визначали фотометричним методом за зміною оптичної густини суспензії на СФ-46 при довжині хвилі 590 нм. Перерахунок одиниць оптичної густини (D_{590}) на величину абсолютно сухої біомаси (АСБ) здійснювали за калібрувальним графіком.

В процесі досліджень визначали абсолютно суху біомасу та вологість продукту за допомогою вагового методу [7], масову частку білка у біомасі спіруліни — за біуретовою реакцією [8], вміст фікоціаніну, хлорофілу та каротиноїдів — за допомогою спектрофотометричних методів [9–11].

Досліджуючи вплив різних концентрацій гліцину на **накопичення біомаси** було відмічено (рис. 1), що внесення гліцину у культуральне середовище на 2-у добу від початку культивування (при густині культури 0,2 г АСБ/л) у концентрації 75 мг/л призводить до збільшення концентрації біомаси на 33 %, порівняно із результатом, отриманим при культивуванні без внесення гліцину (далі контроль), відповідно з 0,7 до 0,93 г АСБ/л.

Збільшення концентрації внесеного гліцину до 150 мг/л призводить до незначного збільшення концентрації біомаси на 17 %, порівняно з контролем. Подальше збільшення концентрації гліцину не призводить до статистично достовірного збільшення концентрації біомаси.

При внесенні гліцину на 7 добу від початку культивування (при густині культури 0,5 г АСБ/л) у концентрації 75–150 мг/л викликає найбільш інтенсивний ріст спіруліни — концентрація біомаси збільшується відповідно на 63 % та 50 %, порівняно із контролем. Більш високі концентрації гліцину 225–300 мг/л дозволяють збільшити вихід біомаси всього на 21–28 %.

Внесення гліцину на 14 добу культивування (при густині культури 0,8 г АСБ/л) призводить до поступового збільшення концентрації біомаси до 1,27 г АСБ/л (що перевищує контроль на 17 %) із збільшенням концентрації гліцину до 225 мг/л.

Майже ніякого впливу на інтенсивність росту спіруліни не справляє внесення досліджених концентрацій гліцину на 21 добу від початку культивування (при густині культури 1,0 г АСБ/л).

Дослідження впливу гліцину на **накопичення білка** показує (рис. 2), що внесення гліцину у культуральне середовище на 2 добу культивування у концентрації 75 мг/л призводить до збільшення вмісту білка у біомасі спіруліни на 16 %, порівняно із контролем. Більші концентрації гліцину не призводять до статистично достовірного збільшення вмісту білка в біомасі спіруліни.

Внесення гліцину на 7 добу від початку культивування у концентраціях 75 та 150 мг/л дозволяє отримати біомасу спіруліни з найбільшим вмістом білка — відповідно 692 та 671 мг/г АСБ, що у середньому на 20 % більше ніж у контролі. Збільшення концентрації гліцину до 225 мг/л дозволяє збільшити вміст білка на 11 %, порівняно із контролем. Внесення гліцину у концентрації 300 мг/л майже не призводить до збільшення вмісту білка.

Внесення гліцину на 14 добу культивування призводить до поступового збільшення вмісту білка у біомасі спіруліни до 677 мг/г АСБ (що перевищує контроль на 14 %) із збільшенням концентрації гліцину до 150 мг/л. Із збільшенням концентрації гліцину до 225 мг/л вміст білка у біомасі спіруліни збільшувався на 11 %, порівняно із контролем. При концентрації гліцину — 300 мг/л вміст білка у біомасі порівняно із контролем практично не змінюється.

Внесення гліцину на 21 добу культивування у всіх досліджених концентраціях не призводить до статистично достовірного збільшення вмісту білка.

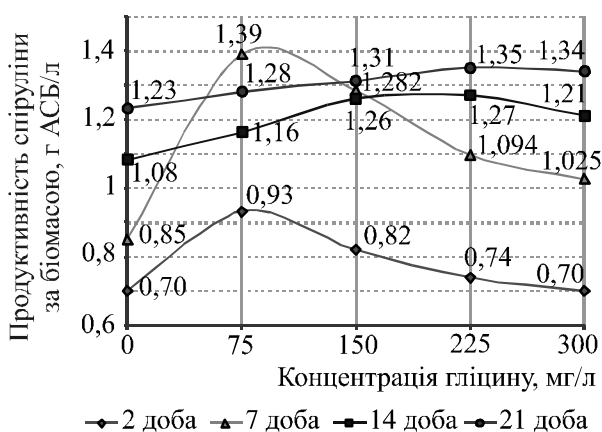


Рис. 1. Вплив гліцину на продуктивність спіруліни за біомасою, залежно від того, на якій фазі росту вноситься гліцин

Проведені дослідження показують, що внесення гліцину, особливо на 7 – 14 добу культивування, призводить до інтенсивного **накопичення фікоціаніну** у біомасі (рис. 3). Так, при внесенні гліцину на 2-у добу культивування найбільше накопичення фікоціаніну (121 мг/г АСБ) відбувається при внесенні гліцину у концентрації 75 мг/л. При цьому вміст фікоціаніну порівняно із контролем збільшується на 59 %.

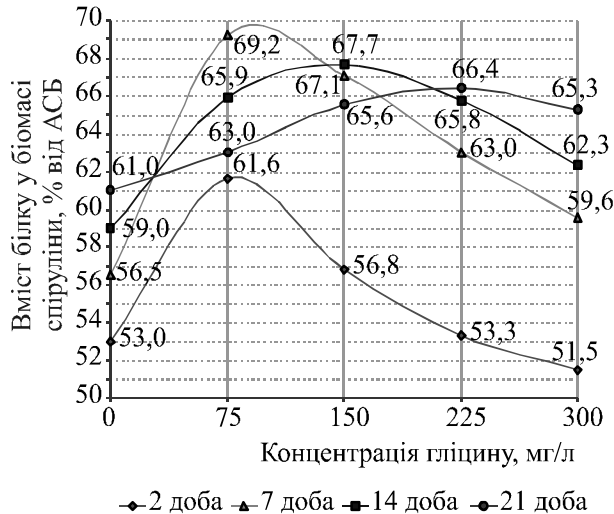


Рис. 2. Вплив гліцину на вміст білку у біомасі спіруліни, залежно від того, на якій фазі росту вноситься гліцин

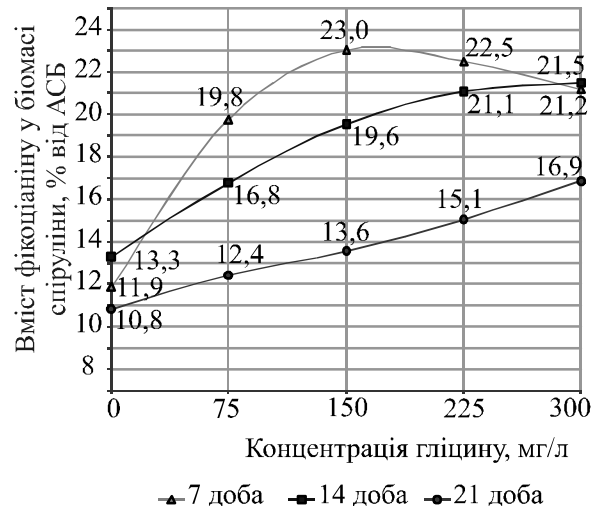


Рис. 3. Вплив гліцину на вміст фікоціаніну у біомасі спіруліни, залежно від того, на якій фазі росту вноситься гліцин

Найбільш інтенсивне накопичення фікоціаніну у біомасі спіруліни відбувається при внесенні гліцину на 7-у добу культивування із збільшенням його концентрації до 150 – 225 мг/л. При цьому вміст фікоціаніну порівняно із контролем збільшується в 1,9 рази і досягає 225 – 230 мг/г АСБ.

При внесенні гліцину на 14-у добу культивування інтенсивність накопичення фікоціаніну збільшується із збільшенням концентрації внесеного гліцину до 225 – 300 мг/л, при цьому вміст фікоціаніну збільшується майже на 60 %, порівняно із контролем.

При внесенні гліцину на 21-у добу культивування відбувається поступове збільшення вмісту фікоціаніну із збільшенням концентрації внесеного гліцину. Так, при внесенні гліцину у концентрації 75 мг/л вміст фікоціаніну, порівняно із контролем, збільшується всього на 15 %, із збільшенням концентрації гліцину до 150 мг/л — на 26 %, до 225 мг/л — на 40 %, до 300 мг/л — на 56 %.

Таким чином, чим пізніше вноситься гліцин, тим більші концентрації гліцину справляють інтенсифікуючий вплив на накопичення фікоціаніну.

Дослідження впливу гліцину на **біосинтез хлорофілу** клітинами спіруліни показує (рис. 4), що при внесенні гліцину на 2-у добу культивування із збільшенням його концентрації до 225 – 300 мг/л відбувається збільшення вмісту хлорофілу на 25 % у порівнянні із контролем.

При внесенні гліцину на 7-у і 14-у добу культивування статистично достовірно збільшення вмісту хлорофілу у біомасі спіруліни — приблизно на 17 % у порівнянні із контролем, відбувається тільки при концентраціях гліцину 300 мг/л.

Внесення гліцину на 21 добу культивування при всіх досліджених концентраціях не призводить до статистично достовірного збільшення вмісту хлорофілу у біомасі.

Визначення **вмісту каротинів** у біомасі спіруліни показує (рис. 5), що внесення гліцину у середовище культивування на 2-у добу культивування тільки у концентрації 300 мг/л призводить до незначного збільшення вмісту каротинів у біомасі — на 13 % у порівнянні з контролем. При менших концентраціях гліцин не справляє суттєвого впливу на накопичення каротинів.

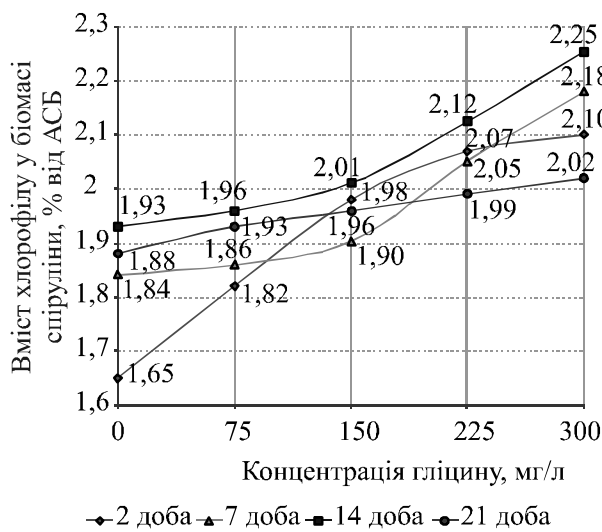


Рис. 4. Вплив гліцину на вміст хлорофілу у біомасі спіруліни, залежно від того, на якій фазі росту вноситься гліцин

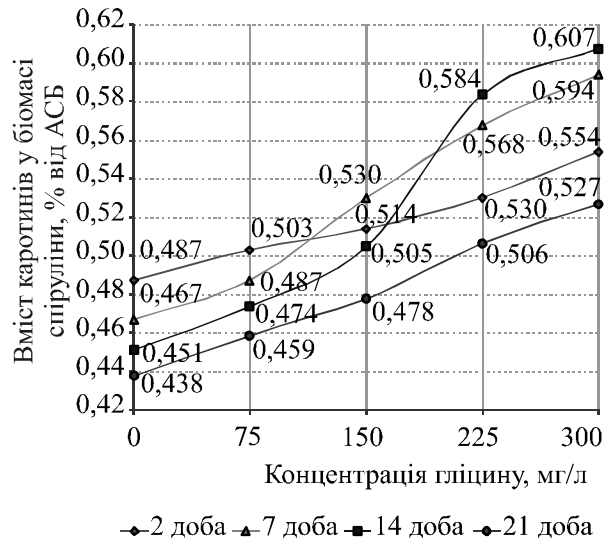


Рис. 5. Вплив гліцину на вміст каротинів у біомасі спіруліни, залежно від того, на якій фазі росту вноситься гліцин

Внесення гліцину на 7-у добу культивування у концентрації 150 мг/л дозволяє збільшити вміст каротинів на 13 % порівняно із контролем, у концентраціях 225 та 300 мг/л — відповідно на 22 % та 27 %.

Суттєве збільшення вмісту каротинів у біомасі спіруліни при внесенні гліцину у культуральне середовище на 14-у добу культивування відбувається тільки при його концентраціях 225 – 300 мг/л. При цьому вміст каротинів збільшується на 30 – 35 %, порівняно із контролем. Це дозволяє отримати біомасу спіруліни з найбільшим вмістом каротинів — близько 6 мг/г.

При внесенні гліцину на 21-у добу культивування із збільшенням його концентрації відбувається поступове збільшення вмісту каротинів у біомасі, проте статистично достовірне їх збільшення спостерігається при концентраціях гліцину 225 – 300 мг/л, що призводить до збільшення вмісту каротинів на 15 – 20 %, порівняно із контролем.

Висновки

Визначено, що внесення гліцину у культуральне середовище призводить до інтенсифікації фотосинтетичних процесів спіруліни, що виражається у збільшенні продуктивності спіруліни за біомасою, білком та пігментами, зокрема фікоціаніну, хлорофілу і каротинів. Причому різні концентрації екзогенно внесеного гліцину мають різний вплив на біосинтетичні процеси спіруліни, які також залежать від того при якій густині культури вноситься гліцин.

Визначено, що найбільше накопичення біомаси спостерігається при внесенні у культуральне середовище гліцину у концентрації 75 мг/л при густині культури 0,5 г АСБ/л і становить близько 1,4 г АСБ/л, що перевищує аналогічний показник продуктивності без екзогенно внесеного гліцину на 63 %.

Визначено, що внесення гліцину у культуральне середовище у концентрації від 150 до 225 мг/л при густині культури 0,5 – 0,8 г АСБ/л дозволяє отримати найбільший вміст фікоціаніну у біомасі спіруліни — 211 – 230 мг/г АСБ.

Визначено, що найбільший вміст білку у біомасі спіруліни (692 мг/г АСБ) можна отримати, якщо вносити гліцин у концентрації 75 мг/л при густині культури 0,5 г АСБ/л.

Визначено, що для одержання найбільшого вмісту хлорофілу і каротинів у біомасі спіруліни гліцин необхідно вносити у середовище культивування у концентрації не менше 300 мг/л при густині культури в межах 0,5 – 0,8 г АСБ/л.

Література

1. Шнюкова Є.І. Фотоорганотрофний і гетеротрофний ріст гормогонієвих синьозелених водоростей. //Укр.бот.журн. 1984, №4, т.41, с. 49 – 54.
2. Дробецкая И.В. Использование мочевины при выращивании синезеленой микроводоросли *Spirulina platensis* (nordst.) geitl. В накопительной культуре//Экология моря. 2002. — 60. с. 53 – 59.
3. Рудик В.Ф., Бульмага В.П., Курняк Т.В., Чапурина Л.Ф. Продуктивность и биохимический состав *Spirulina platensis* (nordst.) geitl, Calu-835 при культивировании в присутствии координационных соединений Zn(II)/ Альгология. 2003- 13. №3. — С. 322 – 330.
4. Marquez Facundo J., Nishio Naomichi, Nagai Shiro Enhancement of biomass and pigment production during growth of *Spirulina platensis* in mixotrophic culture // J. Chem. Technol. And Biotechnol. — 1995. — 62, №2. — p. 159 – 164.
5. Henrikson R. Earth Food Spirulina // Renore Enterprises, Inc. Laguna Beach, California. — 1989. — P. 25 – 95.
6. Дробецка І.В. Вплив умов мінерального живлення на ріст і хімічний склад *Spirulina platensis* (Nordst.) Geitler: Автореф. дис. ... канд.біол.наук — Севастополь: Інститут біології південних морів ім. О.О.Ковалевського, 2005.-27с.
7. Рудик В.Ф., Гудумак В.С. Усовершенствование способа определения абсолютно сухой биомассы спирулины. — Кишин. Гос. ун-т. — Кишинев, 1989, — 6 с. — Библиогр. — Деп. В Молд. НИИ НТИ 22.02.89 № 1085 – М89.
8. Палладин А. В., Кирсенко О. В. Аденозинтрифосфатаза в различных клеточных фракциях головного мозга. // Биохимия, 1961, 26, № 2, с. 385 – 390.
9. Рудик В.Ф. Биотехнологические основы получения биомассы микроводорослей и перспективы ее применения: Дис. ... д-ра. биол. наук — Молдавский Государственный университет — Кишинев, 1990. — 363 с.
10. Boussiba S., Richmond A. Isolation and characterization of phycocyanins from blue-green alga *Spirulina platensis* // Arch. Microbiol.–1979. — 120. — P. 155 – 159.
11. Петерсон Н.В., Черномірдіна Т.О., Пурелян Є.К. Практикум з фізіології рослин. Київ, видавн. УСГА. — 1993. — 137 с.

ВЛИЯНИЕ ГЛИЦИНА НА ФОТОСИНТЕТИЧЕСКУЮ АКТИВНОСТЬ МИКРОВОДОРОСЛИ SPIRULINA PLATENSIS (GOM.) GEITL.

А.В. Котинський, А.І. Салюк, А.А. Яковенко
Национальный университет пищевых технологий

Использование разных органических источников углерода и азота приводит к изменению метаболических процессов в микроводорослях, что в свою очередь приводит к изменению как их биохимического состава, так и интенсивности их роста.

Учитывая данные о том, что спирулина при определенных условиях способна использовать некоторые экзогенные органические вещества, нами было проведено исследование влияния глицина, как органического источника азота и углерода, на рост спирулины.

Внесение глицина в культуральную среду приводит к интенсификации фотосинтетических процессов спирулины, что выражается в увеличении накопления биомассы, белка и пигментов, в частности фикоцианина, хлорофилла и каротинов. Разная концентрация экзогенно внесенного глицина оказывает разное влияние на биосинтетические процессы в спирулине, которые также зависят от того, при какой плотности культуры вносится глицин.

Наибольшее накопление биомассы (1,4 г АСБ/л) и белка (692 мг/г АСБ) наблюдается при внесении в культуральную среду глицина в концентрации 75 мг/л при плотности культуры 0,5 г АСБ/л.

ЕКОЛОГІЯ ТА ОХОРОНА НАВКОЛИШНЬОГО СЕРЕДОВИЩА

Внесение глицина в культуральную среду в концентрации от 150 до 225 мг/л при плотности культуры 0,5–0,8 г АСБ/л позволяет получить наибольшее содержимое фикоцианина в биомассе спирулины — 211–230 мг/г АСБ.

Для получения наибольшего содержания хлорофилла и каротинов в биомассе спирулины глицин необходимо вносить в среду культивирования в концентрации не менее 300 мг/л при плотности культуры в пределах 0,5–0,8 г АСБ/л.

Ключевые слова: спирулина, глицин, накопление биомассы, белок, пигменты.