

ЛИТЕРАТУРА

1. Грачева И.М., Мосичев М.С., Гавристов А.В., Филиппов С.А. Глюкозоизомераза. Обзор. М., 1976.
2. Окунев О.Н., Аманян В.М., Головлев Е.А., Виноградова К.А., Скрыбин Т.К. Прикл. биохим. и микробиол., 14, 1, 44-48, 1978.
3. Улезло И.В., Тулеува Е.Т., Безбородов А.М. Прикл. биохим. и микробиол., 16, 4, 561-569, 1980.
4. Blasco R., Castillo F. Appl. and Environ. Microbiol., 58, 2, 690-695, 1992.
5. Ormerod I.G., Ormerod S.F., Gest H. Arch. Biochem. and Biophys., 94, 2, 449-463, 1961.
6. Percheron I. Comptes Rendues, Acad. Sci., 255, 19, 2521-2522, 1962.

Получено 21 V 1997

Биолог. журн. Армении, 3-4 (50), 1997

УДК 582.281.212.043

ВЛИЯНИЕ ИНТЕНСИВНОСТИ ОСВЕЩЕНИЯ НА РОСТ И ОБРАЗОВАНИЕ КАРОТИНОИДОВ *RHODOPSEUDOMONAS SPHAEROIDES* Д-10

А.Х. ПАРОНИАН

Институт микробиологии НАН Армении, 375510, г. Ереван

Изучено влияние интенсивности освещения на рост и образование каротиноидных пигментов *Rh. sphaeroides* Д-10, выделенных из минеральных источников Джермука. Установлено благоприятное влияние невысоких интенсивностей освещения на каротиногенез, при этом максимальное накопление каротиноидов не коррелирует с максимальным выходом биомассы. Показано, что преобладающим каротиноидом при фотосинтетическом росте является сфероидин и его содержание составляет около 60% от общей суммы каротиноидов независимо от интенсивности освещения.

Ուսումնասիրվել է լույսի ինտենսիվության ազդեցությունը *Spheroides* հանքային աղբյուրներից անջատված *Rh. sphaeroides* Д-10 շտամի աճի և կարոտինոիդային պիգմենտների առաքացման վրա: Հաստատվել է լույսի ոչ բարձր ինտենսիվությունների բարենպաստ ազդեցությունը կարոտինոիդների առաքացման վրա, ընդ որում կարոտինոիդների մաքրմալ կուտակումը չի համընկնում կենսազանգվածի մաքրմալ ելքի հետ: Ցույց է տրվել, որ ֆոտոսինթետիկ աճի պայմաններում գերակշռող կարոտինոիդը սֆերոիդենն է և նրա պարունակությունը կազմում է կարոտինոիդների ընդհանուր քանակի մոտ 60%-ը անկախ լույսի ինտենսիվությունից:

The influence of illumination intensity on the growth and carotenoid pigments formation of *Rh. sphaeroides* str. Д-10, isolated from mineral sources of Dzhermuk has been investigated. The efficiency of low intensity illuminations on the carotenoids formation was revealed. The maximal accumulation of carotenoids was not correlated with maximal yield of

biomass. At photosynthetic growth conditions the prevalent carotenoid was spheroidene and its contents composed about 60% from the total quantity of carotenoids without depending on the intensity of illumination

Фототрофные бактерии - интенсивность освещения - каротиноиды

В последнее время в биотехнологии интенсивно ведутся исследования по использованию несерных пурпурных бактерий в качестве кормовых препаратов [6,11,13]. Основанием для этого служит наличие в биомассе пурпурных бактерий высокого содержания белка с полноценным аминокислотным составом, ряда витаминов, органических кислот, а также пигментов-каротиноидов. Последние находят широкое применение в пищевой промышленности и в медицинской практике [5,6,7]. В связи с загрязнением окружающей среды значительно возросла потребность в каротиноидных пигментах, обладающих антимуtagenными, антиканцерогенными свойствами, антиоксидантной активностью.

В микробиологической промышленности в качестве продуцентов каротиноидов широко используются мицелиальные грибы. Однако по разнообразию они уступают фотосинтезирующим микроорганизмам, в том числе фототрофным бактериям. Поэтому поиски новых продуцентов среди фототрофных бактерий целесообразны и своевременны.

Целью настоящей работы было изучение условий роста и накопления каротиноидных пигментов *Rh.sphaeroides* шт. Д-10, выделенных из минеральных источников Джермука.

Материал и методика. Объектом исследований служила несерная пурпурная бактерия *Rh.sphaeroides* шт. Д-10 ИИМБ И-6508, выделенная из минеральных источников Джермука [3].

Культуру выращивали на среде Ормеруда [12] анаэробно в течение 7-8 суток в люминестате при освещенности 250-3000 люкс и температуре 28-30°. Для освещения использовали лампы накаливания. Выращивание в анаэробных условиях проводили в темноте на качалке при 180 об/мин.

Рост культуры определяли измерением оптической плотности суспензии на спектрофотометре СФ-26 при длине волны 660 нм, а также по сухому весу. Спектры поглощения целых клеток культуры в видимой области записывали на регистрирующем спектрофотометре "Спекор". Экстракции каротиноидов проводили методом Кондратьевой и Малофеевой [2]. Общее содержание каротиноидов определяли спектрофотометрически в растворе легкого петролейного эфира (40-60°), принимая $E_{1\%}^{1\text{см}}$ равным 2630 при 478 нм, где обнаруживается основной максимум поглощения экстракта этих пигментов [9].

Состав каротиноидов определяли методом тонкослойной хроматографии, используя готовые пластинки "Silufol" (фирма Кавальер, ЧССР). Выделение пигментов проводили в восходящем токе растворителя бензол:петролейный эфир:ацетон (17:2:1) в темноте. Отдельные пигменты элюировали с пластинок петролейным эфиром и количественное содержание их определяли измерением оптической плотности при длине волны главного максимума поглощения (рис. 1).

Результаты и обсуждение. Изучаемая несерная пурпурная бактерия *Rh.sphaeroides* шт. Д-10 способна к росту в анаэробных условиях на свету и в аэробных условиях в темноте на средах, где донорами электронов служат органические субстраты. Однако в отличие от типового штамма в качестве донора электронов культура может использовать также тиосульфат. В связи с тем, что основные полосы поглощения света бактериохлорофилла лежат

в невоспринимаемой глазом инфракрасной области, видимая окраска фототрофных бактерий определяется в основном содержащимися в них каротиноидами. Цвет клеточной суспензии бактерии, выросшей анаэробно на свету, желто-коричневый. В присутствии в среде кислорода цвет культуры становится красным. В аэробных условиях в темноте культура не растет. В анаэробных же условиях в темноте цвет клеточной суспензии бледно-коричнево-красноватый, при перемешивании на качалке культура становится еще бледнее.

В условиях фотосинтетического роста клетки культуры содержат бактериохлорофилл *a* с максимумами поглощения при 590, 802 и 850 нм и каротиноидные пигменты сферонденового ряда с максимумами поглощения при 424, 478 и 510 нм (рис. 1).

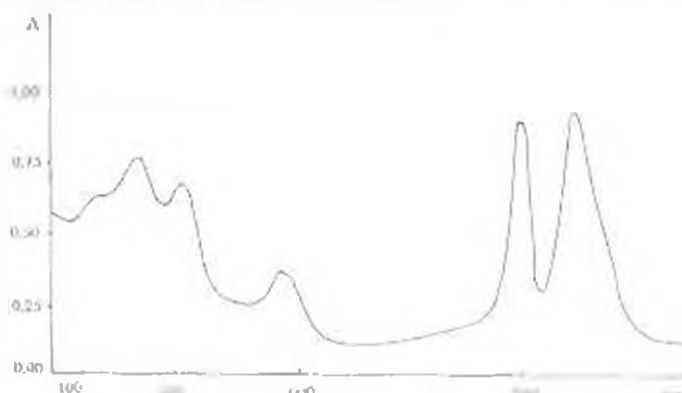


Рис. 1. Спектр поглощения целых клеток культуры *Rh.sphaeroides* шт. Д-10, выращенной анаэробно при освещении 750 люкс.

Большинство фототрофных бактерий хорошо растет при освещении 1500-2500 люкс, и изменение интенсивности света в этих пределах положительно влияет как на скорость роста, так и на накопление пигментов [1,10]. Однако изучение влияния света на рост и накопление биомассы *Rh.sphaeroides* шт. Д-10 показало, что интенсивное накопление биомассы имеет место при освещении 750-1000 люкс (рис.2), а наибольшее количество каротиноидов обнаруживается при 500-750 люкс (табл.1). При этом количество каротиноидов достигает максимума на шестые сутки, а биомасса - на четвертые.

Увеличение интенсивности освещения до 1500-3000 люкс приводит к значительному снижению общего содержания каротиноидов.

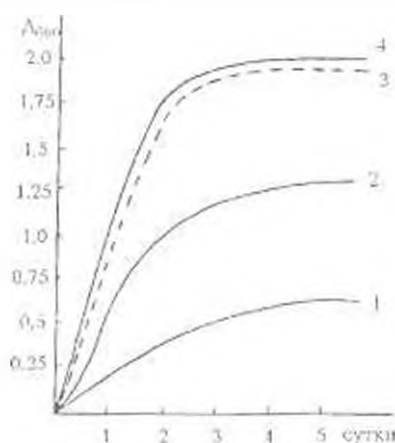


Рис. 2. Влияние интенсивности освещения на рост и накопление биомассы *Rh.sphaeroides* шт. Д-10 в анаэробных условиях. Интенсивность освещения 1 - 250 люкс; 2 - 500 люкс; 3 - 750 люкс; 4 - 1000 люкс.

Преобладающие каротиноиды были идентифицированы как сфероиден (Rf 0.53) и гидроксисфероиден (Rf 0.72). Основную роль в поглощении в инфракрасной области спектра шт. Д-10 играет сфероиден.

Таблица 1. Прирост каротиноидов *Rh. sphaeroides* шт. Д-10 в процессе анаэробного роста при разной интенсивности освещения ($\lambda_{max}=478$ нм)

Время, сутки	Интенсивность освещения, люксы					
	250	500	750	1000	2000	3000
1	-	-	-	-	-	-
2	0,08	0,18	0,13	0,06	0,12	0,08
3	0,14	0,56	0,30	0,13	0,50	0,15
4	0,25	0,75	0,52	0,25	0,62	0,27
5	0,31	0,87	0,73	0,37	0,70	0,39
6	0,37	1,12	1,06	0,48	0,77	0,51
7	0,38	1,13	1,12	0,62	0,77	0,64
8	0,38	1,13	1,13	0,70	0,79	0,72
9	0,38	1,13	1,12	0,75	0,81	0,78

В анаэробных условиях в темноте общее количество каротиноидов значительно ниже, и, судя по пятнам на хроматограмме (рис. 3), в этом случае в клетках содержится соответствующий кетокаротиноид сфероидена - сфероиденон (Rf 0.57). Общий выход каротиноидов на единицу прироста биомассы был самый высокий при интенсивности освещения 750 люкс (табл. 2). Следует отметить, что при выращивании шт. Д-10 в анаэробных условиях на свету, в отличие от других каротиноидов, содержание сфероидена составляет около 60% от общей суммы каротиноидов независимо от интенсивности освещения.

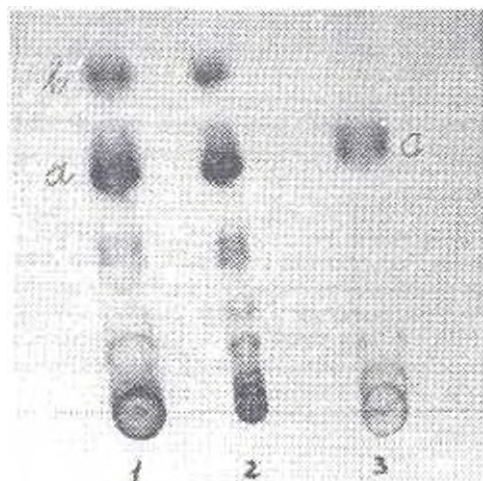


Рис. 3. Влияние интенсивности освещения на образование каротиноидов *Rh. sphaeroides* шт. Д-10 при разных условиях роста: 1 - 750 люкс, рост анаэробный; 2 - 1500 люкс, рост анаэробный; 3 - темнота, рост анаэробный. а - сфероиден (478 нм), в - гидроксисфероиден (510 нм), с - сфероиденон (460 нм).

Таким образом, полученные данные позволяют считать *Rh. sphaeroides* шт. Д-10 экономически выгодным объектом для получения каротиноидных пигментов, т.к. в условиях фотосинтетического роста

Таблица 2. Содержание каротиноидов *Rh. sphaeroides* шт. Д-10 в процессе анаэробного роста при разной интенсивности освещения

Интенсивность освещения, люкс	Общее содержание каротиноидов, мг/г сухой биомассы	Содержание сферондена, мг/г сухой биомассы
500	1,9	1,1
750	2,4	1,4
1000	2,2	1,3
1500	0,6	0,4
2000	0,5	0,3

всего лишь при освещении 500-750 люкс можно усилить процесс пигментообразования и получить богатую каротиноидами биомассу.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кондратьева Е.П. Фотосинтезирующие бактерии и бактериальный фотосинтез. М., 1972.
2. Кондратьева Е.П., Малофеева И.В. Микробиология, 33, 5, 758, 1964.
3. Малатян М.Н., Арутюнян Т.Г., Паронян А.Х., Кеннен О.И., Александрушеина Н.И. Микробиология, 51, 3, 517-519, 1982.
4. Феофилова Е.П. Пигменты микроорганизмов. М., 1974.
5. Феофилова Е.П. Прикл. биохим. и микробиол., 30, 2, 181-195, 1994.
6. Шестаков С.В. Биотехнология, 213-216, М., 1984.
7. Buitton G. Carotenoids Chemistry and Biology, Plenum Press, 167-184, 1990.
8. Hunter C.N., Hundle B.S., J.E. Hearst, Lang H.P., Gardiner A.T., Takaichi S., Cogdell R.J. Bacteriology, 176, 12, 3692-3697, 1994.
9. Jensen S.L. The constitution of some bacterial carotenoids and their bearing on biosynthetic problems. Trondheim, 1962.
10. Karin Schmidt Arch. Microbiol., 77, 1, 231-238, 1971.
11. Noparatnraporn N., Traculnaleumsali S., Silveria R., Niahisava V., Nagai S. Ferment. Technol., 65, 1, 11-16, 1987.
12. Ormerod J.C., Ormerod K.S., Gest H. Arch. Biochem. and Biophys., 94, 2, 449-463, 1961.
13. Sasaki K., Noparatnraporn N., Nagai S. Bioconversion of waste materials to industrial products. Elsevier, 223-261, 1991.

Поступила 10.07.1997