

А. А. Антонян, Е. Л. Захаркина,
Г. И. Мелешко, Л. А. Романенко

SPIRULINA PLATENSIS (GOM.) GEITL.
В ИНТЕНСИВНОЙ КУЛЬТУРЕ^x

Настоящая работа является частью проводимых нами исследований по поискам и введению в интенсивную культуру новых перспективных форм одноклеточных водорослей и изучению возможностей их использования в фотоавтотрофном звене биологической системы жизнеобеспечения человека. Целью ее было исследование продуктивности *Spirulina platensis* в условиях интенсивного выращивания, особенностей газового обмена, пигментного аппарата и биохимического состава продуцируемой биомассы.

Литературные данные по этой форме водорослей крайне незначительны и в основном касаются вопроса производственного культивирования (1-4). В некоторых работах отмечается высокая пищевая ценность спирулины. Указывается на своеобразие структуры клеточной оболочки, что в известной степени характеризует перспективность этих водорослей при разработке способов рациональной утилизации их органического вещества, получение которого в больших количествах из клеток хлореллы и других протококковых водорослей значительно затруднено из-за наличия у них трудно разрушаемой оболочки клеток.

Спирулина — это нитчатая форма водорослей из семейства осцилаториевых, с высоким содержанием белка в биомассе. Нити (трихомы) спирулины имеют форму правильной спирали, и состоят из разного числа клеток (до 15), связанных друг с другом поперечными перегородками. Длина такой нити порядка 300 мк, толщина — 6 мк. Трихомы окружены слизистым чехлом. Размножение осуществляется гормогониями, выходящими наружу путем разрыва чехла трихом.

Для культивирования спирулины в лабораторных условиях использовалась питательная среда, предложенная Зароуком (3), содержащая (в г/л): NaHCO_3 — 16,8; K_2HPO_4 — 1,0; NaN_3 — 6,0; NaCl — 1,0; MgSO_4 — 0,2; CaCl_2 — 0,04; FeSO_4 — 0,01 и ЕДТА — 0,08. Раствор микроэлементов, приготовленный по прописи Арнона (5), вносился в количестве 1 мл на литр среды. Исходный pH среды варьировал в пределах 8,2–8,5. Щелочной pH среды был обусловлен наличием в ней большого количества карбонатных и бикарбонатных ионов.

^x Работа выполнена в Ин-те медико-биологических проблем МЗ СССР.

Культура предварительно выращивалась в люминостате при освещенности 5–6 клк до плотности 0,5–0,6 г/л. Затем клетки концентрировались методом вакуумного фильтрования, разбавлялись свежей питательной средой и суспензия помещалась в опытный реактор. Для выращивания водорослей использовалась плоская кювета (освещение люминесцентными лампами 8–10 клк) или реактор ротационного типа, освещаемый лампами накаливания (освещенность 35–40 клк), работающий по замкнутому воздушному контуру. Температура поддерживалась в пределах $35^{\circ}\text{C} \pm 1,0$.

Продуктивность культуры определялась по приросту сухого вещества, поглощению углекислоты и выделению кислорода. Биомасса подвергалась биохимическому и химическому анализам ранее описанными методами (6). Определялся также состав пигментов. Для извлечения пигментов из клеток спироулины и дальнейшей идентификации их состава нами применялись различные методы (7–9). Для снятия спектров поглощения пигментов на спектрофотометре СФ-10 использовались ацетоновые и спиртовые экстракты для хлорофилла и каротиноидов и фосфатный буфер с pH 5,8 для билихромопротеидов.

На рис. 1 приведены спектры поглощения пигментов. Для хлорофилла получен максимум поглощения в области 663–665. Этому максимуму соответствует хлорофилл "а". Максимум в спектре поглощения 621 принадлежит билихромопротеидам, основную долю которых составляет фикоцианин. Максимум растянут от 600 до 630 м μ , что согласуется с литературными данными, полученными для пигментов *An. variabilis* (8). Получен также максимум поглощения в области 456 м μ , что характеризует максимум каротина, составляющего основную долю в сумме желтых пигментов.

В табл. 1 приведены данные по содержанию различных пигментов в клетках при выращивании их в накопительном режиме на различных источниках света.

Таблица 1

Содержание пигментов в клетках *Sp. platensis*
при различных источниках освещения в начале
и в конце опыта (% на сухой вес)

Условия освещения	Плотность суспензии, г/л	Общая сумма пигментов	Хлорофилл "а"	Каротиноиды	Билихромопротеиды
Люминесцентные лампы (8–10 клк)	0,54	2,55	0,75	0,18	2,02
	3,05	6,61	1,32	0,22	5,07
Лампы накаливания (35–40 клк)	0,60	3,31	0,91	0,20	2,21
	5,0	9,08	1,80	0,28	7,00

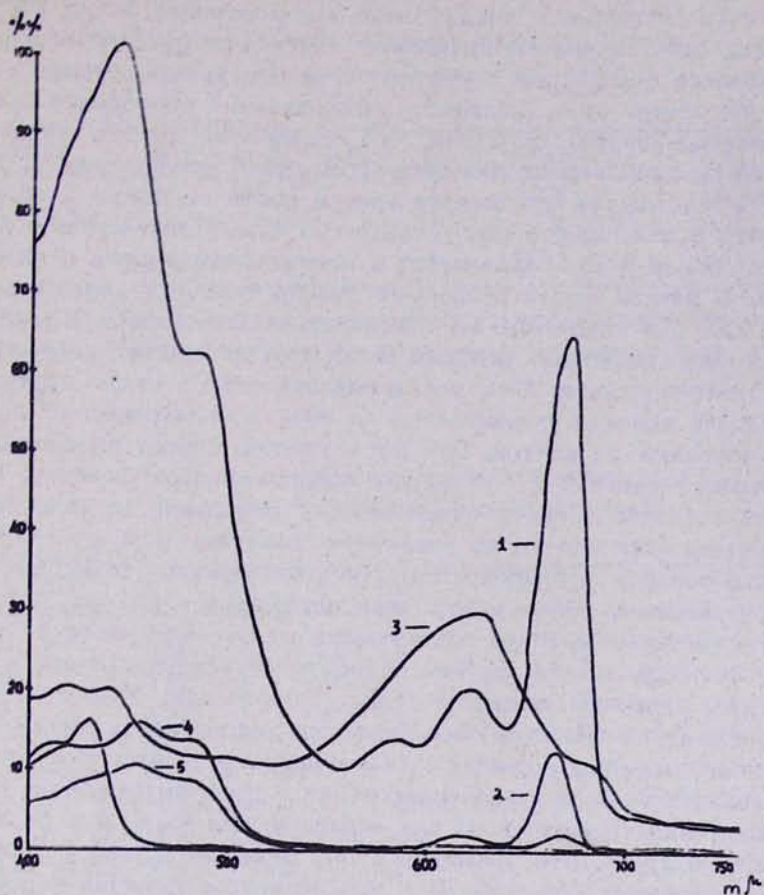


Рис. 1. *Spirulina platensis* (Gom.) в питательной культуре. Спектр поглощения пигментов: 1 — общий экстракт (в ацетоне); 2 — хлорофилл "а"; 3 — фикоцианин (в фосфатном буфере); 4 — сумма каротиноидов, 5 — каротин.

Количество пигментов (% на сухой вес) в клетках изменялось в зависимости от условий культивирования. По мере нарастания плотности суспензии при накопительном культивировании и одной и той же освещенности общее содержание пигментов в клетках увеличивалось на люминесцентных лампах от 2,55 до 6,6%, на лампах накаливания — от 3,3 до 9,1%. Скорость увеличения содержания пигментов в клетках по ходу опыта была пропорциональна увеличению плотности суспензии. Она была практически одинакова для ламп накаливания и люминесцентных ламп и составляла соответственно 1,3 и 1,6% при приросте каждого грамма сухого вещества биомассы водорослей. Содержание пигментов в клетках в конце опыта было обусловлено величиной конечной плотности суспензии.

Фракционирование пигментов показало, что основная часть от общей суммы пигментов приходится на билихромопротеиды, содержа-

ние которых достигало в конце опыта при плотности 5 г/л 7% на сухой вес. Это составляло примерно 40% от общего количества белка в биомассе водорослей. С учетом того, что хромопротеиды содержат 2% пигмента (10), количество фикоцианина составляло 0,43% на сухой вес. Следует отметить, что содержание других пигментов в клетках по ходу нарастания биомассы также увеличивалось. Концентрация хлорофилла при выходе кривой роста на плато увеличивалась почти в два раза, а каротиноидов на 40%. Одновременно с изменением общей суммы пигментов в клетках изменялось и их соотношение. В начале опыта отношение билипротеидов к хлорофиллу составляло 2,5, а в конце — 3,8 на обоих источниках азота. Обращает на себя внимание различная реакция пигментов на неблагоприятные условия культивирования. Так, при дефиците азота в среде содержание хлорофилла в клетках уменьшается на 30%, а билихромопротеиды полностью исчезают из клеток. При этом клетки теряют присущую им сине-зеленую окраску и фотосинтез полностью прекращается. На содержании в клетках каротиноидов азотное голодание не сказывалось. Это понятно, если учесть их известную защитную роль при перенесении водорослями неблагоприятных условий среды (11,12).

Таким образом, общее содержание пигментов в клетках спирулины и их отношение меняется в зависимости от интенсивности освещения и обеспеченности клеток азотом. Наиболее чувствительными к неблагоприятным условиям являются билихромопротеиды. Малая устойчивость пигментной системы сине-зеленых водорослей к неблагоприятным условиям среды является, по-видимому, одним из существенных недостатков их при культивировании в производственных условиях.

Продуктивность спирулины при освещенности 8–10 клк составляла 0,6 г/л в сутки, что примерно в два раза ниже, чем у хлореллы в тех же световых условиях. При перенесении суспензии водорослей в реактор ротационного типа с освещенностью на поверхности 35–40 клк скорость роста увеличивалась примерно в 10 раз. Однако интенсивный рост продолжался лишь 8–10 часов, а затем замедлялся и прекращался полностью. При этом нити водорослей распадались на отдельные фрагменты, среда обогащалась органическим веществом клеточного происхождения и культура погибала. По-видимому, разрушение клеток происходило в результате интенсивного перемешивания суспензии. Высокая интенсивность освещения и температура не оказывали неблагоприятных воздействий на клетки. Это позволяет предположить, что при выращивании клеток спирулины в установке, не оказывающей механических воздействий на клетки, может быть получена высокая и устойчивая продуктивность.

Представляло интерес исследование биохимического состава клеток спирулины. В табл. 2 приведены данные по содержанию в биомассе спирулины белков, жиров и углеводов.

Полученные результаты показали, что биомасса спирулины исключительно богата белком, содержание которого колебалось в пределах 55–60% на сухой вес при среднем значении 58%. Углеводы составляют 18%, из них 3–5% от сухого веса водорослей составляют углеводы, входящие в состав слизистого вещества нитей.

Таблица 2

Биохимический состав биомассы
спирулины (% на сухой вес)

Элемент	Сырой белок	Жиры	Углеводы
$\bar{X}$	58,1	12,5	18,0
$\pm S$	1,9	2,7	1,5
% V	3,4	20,1	8,0

Полученные данные по элементному составу органического вещества (табл. 3) практически не отличаются от получаемых для хлореллы (6).

Таблица 3

Элементный состав органического вещества спирулины (% на сухой вес)

Элемент	N	C	H	O	Зола
$\bar{X}$	9,30	51,30	7,75	32,50	8,30
$\pm S$	3,70	2,50	0,68	2,00	0,87
% V	4,50	5,00	8,70	6,10	1,80

Обращает на себя внимание высокая зольность биомассы. Количество золы составляет в среднем 8,0%, достигая в отдельных опытах 10%. Высокое содержание золы обусловлено, по-видимому, составом питательной среды, которая содержит большое количество бикарбоната натрия (20 г/л). Это существенный недостаток спирулины, требующий специального отмывания биомассы при ее использовании в кормовых и пищевых целях.

Исходя из элементного состава органического вещества, была рассчитана валовая элементарная формула, характеризующая соотношение основных элементов в составе органического вещества спирулины $C_{6,8}H_{12,6}O_{3,8}N$.

Восстановленность органического вещества (R), рассчитанная по формуле Мильнера (13), составляла 43,2, что несколько выше, чем у анацистиса (14).

Указанному выше биохимическому составу биомассы спирулины соответствовал ассимиляционный коэффициент (CO_2/O_2), равный $0,76 \pm 0,09$ при коэффициенте вариации 10,5%. Величина ассимиляционного коэффициента ниже, чем у хлореллы (15) и анацистиса (14), что говорит о более восстановленной биомассе спирулины.

Перспективность использования спирулины в массовой производственной культуре обусловлена не только высоким содержанием белка, но и аминокислотным составом, характеризующим его пищевую ценность. Из приведенных в табл. 4 данных видно, что по общей сумме аминокислот спирулина превосходит хлореллу (16). Среди неза-

менимых аминокислот количество валина, фенилаланина почти вдвое больше, чем у хлореллы.

Таблица 4

Аминокислотный состав белка спирулины в сравнении с хлореллой (мг/г сухого веса)

Аминокислоты	Chlorella-82	Spirulina pl.
Лизин	29,3	22,0
Гистидин	16,4	72,9
Аргинин	27,4	28,2
Аспарагиновая кислота	32,6	50,6
Серин	24,0	23,1
Глицин	29,5	25,9
Глутаминовая кислота	26,3	72,8
Треонин	31,1	20,2
Аланин	43,4	43,7
Тирозин	17,1	10,9
Метионин	12,3	6,8
Валин	15,2	31,0
Фенилаланин	15,4	22,3
Лейцины	38,3	79,3
Сумма аминокислот	358,3	570,7
Сумма незаменимых аминокислот	141,6	191,5

Биомасса спирулины богата витамином Е, содержание которого на грамм сухого веса составляет 687 μ против 214 μ у хлореллы, что важно с точки зрения использования спирулины в качестве витаминного сырья.

Полученные результаты позволяют сделать вывод о том, что *Sp. platensis* наряду с другими высокопродуктивными формами может быть использована в интенсивной культуре. Меньшая продуктивность и технологичность этой формы водорослей по сравнению с хлореллой может быть компенсирована более высокой пищевой и кормовой ценностью белка и легко разрушаемой клеточной оболочкой.

Ա. Ա. ԱՆՏՈՆՅԱՆ, Ե. Լ. ԶԱԽԱՐԿԻՆԱ, Գ. Ի. ՄԵԼԵՇԿՈՒ, Լ. Ա. ՌՈՍՏԱՆԵԿՈՒ

SPIRULINA PLATENSIS (GOM.) GEITL-Ը ԻՆՏԵՆՍԻՎ ՄՇԱԿՈՒՅՑՈՒՄ

Ա Վ Փ Ո Փ Ա Վ

Ինտենսիվ մշակույթի պայմաններում ուսումնասիրված են *Spirulina platensis*-ի մի քանի հատկությունները: Ցույց է տրված, որ ջրիմուռի այս ձևն օժտված է ֆոտոսինթեզի բավական բարձր ինտենսիվությամբ և կուտա-

կում է սպիրտակուցով հարուստ կենսազանգված (մինչև 60%)։ Սպիրուլինայի սպիրտակուցի կազմում առկա են բոլոր անփոխարինելի ամինաթթուները, որը ցույց է տալիս նրա բարձր կերպիւն և սննդային արժեքը։

Սպիրուլինայի կենսազանգվածը հարուստ է վիտամին E-ով։ Ուսումնասիրված է նաև պիգմենտների որակական և քանակական կազմը։ Ստացված տվյալները ցույց են տալիս, որ սպիրուլինան բավական հեռանկարային է սրտադրական մշակույթում օգտագործելու համար։

A.A.ANTONYAN, E.L.ZAKHARKINA, Q.I.MELESHKO,
L.A.ROMANENKO

THE SPIRULINA PLATENSIS (GOM) GEITL. IN INTENSIVE CULTURE

S u m m a r y

This form of algae shows to have a fairly high intensity of photosynthesis and accumulates a biomass rich with protein (up to 60%). The protein of Spirulina possesses all the unreplacable aminoacids which are a proof of its high feeding and nutritive value.

Л И Т Е Р А Т У Р А

1. Clement G., Rebeller M., Lapeyronnie M., Zarrouk C., Французский патент, кл. A23K, №88103, заявл. 11.03.64, опубл. 7.11.66, 1966.
2. Clement G., Giddey C., Menzi R., Journ. of the Science of Food and Agriculture, v.I8, II, 1967.
3. Zorrouk C. Thes.Doct.sci.appl.Fac.Sci.Univ.Paris, 1966. .
4. Пиневиц В.В., Верзилин Н.Н., Михайлов А.А. Физиология растений, т. 17, вып. 5, 1970.
5. Arnon D.J. Amer.Journ.Bot., 25, 1938.
6. Лебедева Е.К., Мелешко Г.И., Галкина Т.Б., Егорова Н.Н. Сб. "Проблемы космической биологии", т. 16, 1971.
7. Сапожников Д.И., Бажанова Н.В., Маслова Т.Г., Попова И.П., Ботанический журн., т. 46, 1961.
8. Жевнер В.Д., Гусев М.В., Шестаков С.В. Микробиол., т.34, 2, 1965.
9. Милько Е.С. Микробиол., т. 32, 2, 1969.
10. Lemberg R. Natur wissenschaften, I7, 1928.
11. Goodwin T.W. Experienta, v.I0, N 5, 1954.
12. Сапожников Д.И. Сб. "Биохимия и биофизика фотосинтеза", М., изд-во "Наука", 1965.
13. Milner H.W. Plant physiol., 24, N I, 1949.
14. Галкина Т.Б., Кашковский И.И., Курапова О.А., Лебедева Е.К., Мелешко Г.И., Ульянов Ю.Н. Сб. "Проблемы космической биологии", т. 7, 1967.

15. Мелешко Г.И., Лебедева Е.К., Галкина Т.Б. Сб. "Управляемый биосинтез и биофизика популяций", тезисы докладов, Красноярск, 1965.
16. Микаелян К. А. Автореф. канд. дис., Ереван, 1970.