

## НАКОПЛЕНИЕ ОСНОВНЫХ ПИГМЕНТОВ В КЛЕТКАХ ВОДОРОСЛИ *PORPHYRIDIUM PURPUREUM* В ЗАВИСИМОСТИ ОТ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ

У.Д. Шкреблик, Н.П. Дмитривич

Полесский государственный университет, [ulianka.shkrebluk14@gmail.com](mailto:ulianka.shkrebluk14@gmail.com), [natali-rigo@mail.ru](mailto:natali-rigo@mail.ru)

**Аннотация.** Установлено, что для получения максимальных значений концентрации основных фотосинтетических пигментов в клетках водоросли *Porphyridium purpureum* лучшими условиями выращивания являлись освещение светодиодными лампами и применение питательной среды SW.

**Ключевые слова:** водоросли, *Porphyridium purpureum*, фотосинтетические пигменты, желто-зеленый индекс.

**Введение.** Пигменты – это крупные органические молекулы, поглощающие свет определенной длины волны и являющиеся важными веществами, которые содержатся в растениях. В растительных клетках чаще всего встречаются хлорофиллы и каротиноиды.

Хлорофиллы – зеленые пигменты, производные порфирина, окрашивающие хлоропласты в зеленый цвет. Производные хлорофилла, присутствующего в клетках красных водорослей, в медицине широко используются в виде препаратов для фотодинамической терапии рака и в качестве активных добавок в фотокатализе и фотовольтаике [1, с. 25–26].

Каротиноиды – желто-оранжевые пигменты, которые синтезируются высшими растениями, а также грибами, бактериями, водорослями. В настоящее время коммерчески доступные каротиноиды обычно получают методом химического синтеза, что связано с высокими экономическими затратами. Это и привело к значительному увеличению спроса на природные источники каротиноидов с акцентом на морские организмы и особенно водоросли. Каротиноиды, полученные из водорослей, обладают защитными (кардиопротекторные, гепатопротекторные, фотозащитные, почечнозащитные) и полезными для здоровья человека свойствами (антиоксидантные, противоожирительные, противоопухолевые, противодиабетические, противовоспалительные) [2, с. 22–23].

Как известно, в составе *P. purpureum* содержатся такие фотосинтетические пигменты как хлорофилл *a*,  $\beta$ -каротин, ксантофиллы (лютеин, энтероксантин, неоксантин, микоксантофил), фикоэритрин, фикоцианин, аллофикоцианин [3, с. 235], что позволяет рассматривать данный организм в качестве потенциального источника подобного рода пигментов.

Исходя из этого целью данного исследования являлось изучение влияния условий культивирования на накопление основных пигментов в клетках водоросли *Porphyridium purpureum*.

Материалы и методы исследований. В качестве объекта исследований использовалась водоросль *Porphyridium purpureum* (Bory de Saint-Vincent) Drew and Ross, 1965) штамм IBCE P-12, из коллекции водорослей Института биофизики и клеточной инженерии НАНБ. Водоросль выращивали в накопительном режиме в стеклянных сосудах (V=0,5 л) при температуре 25±1°C на протяжении 14-и суток. Культивирование *P. purpureum* проводилось с использованием трех питательных сред в двукратной повторности для каждой: среда MB, среда PES и среда SW [4]. Для освещения использовались светодиодные (LED) и люминисцентные (ЛЮМ) светильники.

Для определения содержания пигментов в процессе роста культуры порфиридиума использовали ацетоновые экстракты его клеток. Для этого шесть параллельных аликвот (по три аликвоты с каждой пробы) по 1 мл порфиридиума первично центрифугировали при 10000g 15 минут. Затем надосадочную жидкость сливали, к осажженным клеткам добавляли холодный ацетон, содержимое встряхивали, измельчали в гомогенизаторе, а затем снова центрифугировали при 4500g 15 минут, получая вытяжку пигментов.

Количество хлорофилла *a* и каротиноидов в полученных экстрактах определяли на основании измеренной на спектрофотометре абсорбции при длинах волн 664 нм, 480 нм, 630 нм, 647 нм которые соответствовали максимумам поглощения света пигментами и 750 нм – для введения поправки на неспецифическую абсорбцию и рассеяние света экстрактом. Концентрацию (мг/мл) исследуемых пигментов (хлорофиллов *a* и каротиноидов) в клетках порфиридиума определяли по ГОСТу [5, с. 796–797]:

$$\text{Chl } a = (11,85 \times D_{664} - 1,54 \times D_{647} - 0,08 \times D_{630}) \times V_3 / V_{\text{пр}}, \quad (1)$$

$$C_k = 4 \times D_{480} \times V_3 / V_{\text{пр}} \quad (2)$$

где  $D_{480}$ ,  $D_{630}$ ,  $D_{647}$  и  $D_{664}$  – оптические плотности экстракта в белых на длинах волн 480, 630, 647 и 664 нм;  
 $V_3$  – объем экстракта, мл;  
 $V_{\text{пр}}$  – объем пробы, мл.

**Результаты исследований и их обсуждение.** Наибольшее среднее значение концентраций пигментов на среде SW отмечено при использовании света LED: 2,017±0,168 мг/мл хлорофилла *a* и 0,653±0,037 мг/мл каротиноидов (таблица).

Таблица – Содержание пигментов и значение желто-зеленого индекса

Условия культивирования	Концентрация хлорофилла <i>a</i> , мг/мл	Концентрация каротиноидов, мг/мл	Желто-зеленый индекс, $C_k/C_{\text{хл}}$
SW/LED	2,017±0,168	0,653±0,037	0,324±0,007
SW/ЛЮМ	1,647±0,221	0,515±0,059	0,313±0,014
PES/LED	0,628±0,135	0,228±0,072	0,364±0,032
PES/ЛЮМ	1,682±0,296	0,537±0,056	0,319±0,030
MB/LED	1,827±0,323	0,591±0,092	0,323±0,049
MB/ЛЮМ	1,554±0,188	0,500±0,048	0,322±0,006

Использование питательной среды PES при применении люминесцентных ламп дало максимальное среднее значение концентрации основных пигментов хлорофилла *a* и каротиноидов – 1,682±0,296 и 0,537±0,056 мг/мл соответственно.

Максимальное значение средних концентраций хлорофилла *a* и каротиноидов на среде MB отмечено при освещенности светодиодными лампами – 1,827±0,323 и 0,591±0,092 мг/мл соответственно.

Значение желто-зеленого индекса не превышало 1,00 во всех пробах, что свидетельствовало о нормальном физиологическом состоянии клеток водоросли.

**Закключение.** На основании результатов проведенного исследования можно сделать вывод о том, что применение для освещения светодиодных ламп и среды SW в качестве питательной позволило получить максимальное количество хлорофилла *a* и каротиноидов в клетках *Porphyridium purpureum* при его культивировании в лабораторных условиях. Исходя из того, что концентрация фотосинтетических пигментов напрямую влияет на дальнейший рост водоросли, данные условия культивирования можно рекомендовать для культивирования как оптимальные.

#### Список использованных источников

1. Тхан, Т. Физико-химические свойства и антиокислительная активность каротиноидов и хлорофиллов из морских водорослей : автореферат дис. ... кандидата химических наук : 02.00.04 / Т. Тхан. – М., 2017. – 151с. – Библиогр.: с. 145–151.

2. Mekinic I. G. Quantitative Profiling of Carotenoids, Tocopherols, Phytosterols, and Fatty Acids in the Flower Petals of Ten Marigold (*Tagetes* spp. L.) Cultivars / I. G. Mekinic, [et al.] // MDPI. – 2023. – Vol. 12. – P. 1–30.

3. Бриттон, Г. Биохимия природных пигментов / Г. Бриттон; Перевод с англ. В. Д. Цыдендамбаева; Под ред. М. Н. Запрометова. – Москва : Мир, 1986. – 422 с.

4. Дмитривич, Н. П. Спектрофотометрический контроль численности клеток водоросли *Chlorella vulgaris* (Beijerinck) [Текст] / Н. П. Дмитривич // Современные задачи и перспективные направления инновационного развития науки: сб. ст. – Уфа: OMEGA SCIENCE, 2022. – С. 19–22.

5. ГОСТ 17.1.4.02–90. Методика спектрофотометрического определения хлорофилла *a* [Текст]. – Введ. 1991–01–01. – М. : Изд-во стандартов, 1990. – 15 с.