

*Т. В. Петерс**

**ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ПРОЦЕССА
ИЗВЛЕЧЕНИЯ ФИКОЦИАНИНА
ИЗ БИОМАССЫ ЦИАНОБАКТЕРИЙ *SPIRULINA PLATENSIS***

Цианобактерии рода *Spirulina platensis* представляют собой перспективный источник различных ценных веществ. *Sp. platensis* – это вид цианобактерий, относящийся к прокариотам, имеет нитчатую спиральную микроскопическую структуру и не образует гетероцист. Данный вид не способен фиксировать азот, и использует энергию фотосинтеза для роста и поддержания жизнедеятельности.

Цианобактерии *Spirulina platensis* способны продуцировать белки, липиды, углеводы, витамины, антибиотики, которые могут быть использованы в пищевой промышленности, косметических продуктах, лекарственных препаратах, а также в качестве эргоносителей.

В *Spirulina platensis* содержится большое количество натуральных и полезных пигментов, таких как: хлорофилл а (хлорофилл b отсутствует), каротиноиды и фикобилипротеины (или фикобилины), включающие в себя фикоцианин, фикоэритрин и аллофикоцианин. Фикобилипротеины служат светособирающими антеннами для фотосистем в клетках цианобактерий, поглощая энергию в тех частях видимого спектра, которые плохо используются хлорофиллом, передавая ее в реакционные центры фотосинтеза для управления фотосинтетическим переносом электронов.

Фикоцианин – белок, входящий в состав фотосинтезирующих пигментных комплексов *Spirulina platensis*, является преобладающим по сравнению с другими пигментами. Он обладает способностью подавлять свободные радикалы, подобно пигменту билирубину сыворотки крови. Благодаря этому, данный пигмент является активным пищевым антиоксидантом [1]. Помимо этого, фикоцианин имеет противовоспалительные свойства, стимулирует синтез эритроцитов, тромбоцитов и лейкоцитов, замедляет процесс роста раковых тканей, а также подавляет проявление аллергии.

* Работа выполнена под руководством д-ра техн. наук, профессора, заведующего кафедрой «Технологии и оборудование пищевых и химических производств» ФГБОУ ВО «ТГТУ» Д. С. Дворецкого.

Целью работы являлось экспериментальное исследование процесса извлечения фикоцианина из биомассы цианобактерий *Spirulina platensis*.

Для проведения эксперимента использовалась биомасса цианобактерий *Spirulina platensis* влажностью 8%. Навески биомассы 2,5 г растворялись в 50 мл дистиллированной воды. Один образец не подвергался обработке, и являлся контролем, экстрагирование проводилось мацерацией в течение 30 мин. Для эффективного извлечения фикоцианина второй образец экстрагировали совместно с разрушением клеточных стенок ультразвуком (частота 22 кГц, мощность 60 Вт, время воздействия 10 мин). Ультразвук за счет колебаний вызывает дезинтеграцию клеточных скоплений, тем самым способствует улучшению контакту клеток цианобактерий с экстрагентом, и интенсифицирует процесс экстрагирования [2].

После обработки от биомассы клеток центрифугированием (в течение 20 мин, скорость вращения 3500 об/мин) отделялся фугат, в котором определялась массовая доля (%), концентрация пигмента (мг/мл) и степень чистоты спектрофотометрическим методом [3]. Далее образцы с экстрактом подвергались высаливанию для перевода фикоцианина в осажденную форму. Для этого был использован 80 %-ный раствор сульфата аммония в соотношении 1:2 (соль:экстракт). Процесс осаждения составлял 3 ч при комнатной температуре 20...25 °С до образования видимого осадка фикоцианина. Неосажденные пигменты и соль отделяли фильтрованием с помощью фильтровальной бумаги, затем определяли массовую долю фикоцианина в биомассе, его концентрацию в экстракте и степень чистоты, используя спектрофотометрический метод [3].

Чистота фикоцианина является важным фактором для его использования в различных отраслях промышленности. Степень чистоты определяется соотношением оптической плотности, измеренной при двух длинах волн: A_{620} и A_{280} . Если соотношение A_{620}/A_{280} больше или равно 0,7, то фикоцианин считается подходящим для использования в пищевой промышленности. Если соотношение находится в диапазоне от 0,7 до 3,9, то пигмент относится к классу реагента. Если же соотношение A_{620}/A_{280} больше или равно 4, то фикоцианин имеет аналитический класс.

Анализ экспериментальных данных (табл. 1) показал, что экстрагирование совместно с разрушением клеточных стенок ультразвуком повышает выход фикоцианина, а степень чистоты фикоцианина остается неизменной.

В таблице 2 представлены результаты эксперимента по осаждению фикоцианина методом высаливания сульфатом аммония.

1. Влияние ультразвукового воздействия на выход фикоцианина

| Образцы | Массовая доля, % | Концентрация фикоцианина в водном экстракте, мг/мл | Степень чистоты |
|--------------|------------------|--|-----------------|
| 1 (контроль) | 2,12 | 2,44 | 0,5 |
| 2 (УЗ) | 2,51 | 2,65 | 0,5 |

2. Выход фикоцианина после осаждения сульфатом аммония

| Массовая доля фикоцианина, % | Концентрация фикоцианина в водном экстракте, мг/мл | Степень чистоты |
|---|--|-----------------|
| <i>Образец 1 (контроль)</i> | | |
| 2,12 | 2,44 | 0,5 |
| <i>Образец 2 (контроль после осаждения)</i> | | |
| 2,21 | 2,89 | 0,4 |
| <i>Образец 3 (УЗ)</i> | | |
| 2,51 | 2,65 | 0,5 |
| <i>Образец 4 (УЗ после осаждения)</i> | | |
| 2,86 | 5,25 | 0,7 |

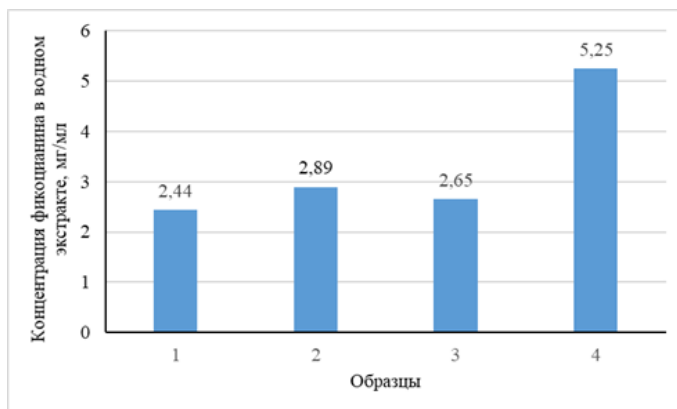


Рис. 1. Изменение концентрации фикоцианина в водных экстрактах исследуемых образцов

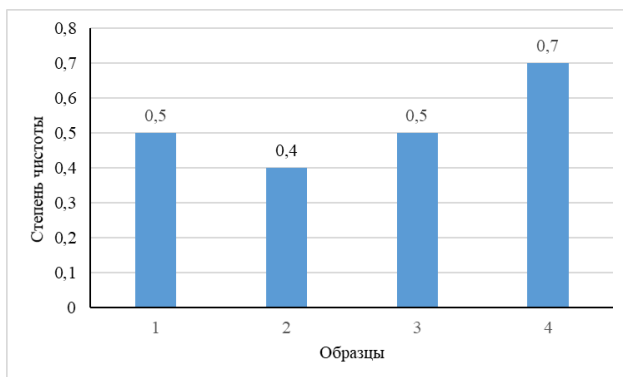


Рис. 2. Изменение степени очистки пигмента в исследуемых образцах

Анализ экспериментальных данных (табл. 2 и рис. 1, 2) показал, что осаждение сульфатом аммония повышает выход фикоцианина в 2 раза. Степень чистоты увеличивается после фильтрования до 0,7. Таким образом, пигмент можно использовать в качестве пищевой добавки. Для использования фикоцианина как аналитического класса и класса реагента необходима дополнительная очистка.

Список литературы

1. Пат. 2320195 Российская Федерация, МПК А23J3/20. Способ получения белкового препарата из цианобактерий / Мазо В. К., Гмошинский И. В. ; Заявитель и патентообладатель Мазо В. К. № 2006118740/13 ; заявл. 31.05.2006 ; опубл. 27.03.2008, Бюл. № 9.
2. Tiwari, В. К. Ultrasound: A clean, green extraction technology / В. К. Tiwari // TrAC Trends in Analytical Chemistry. – 2015. – P. 100 – 109.
3. Геворгиз, Р. Г. Количественное определение массовой доли С-фикоцианина и аллофикоцианина в сухой биомассе *Spirulina (Arthrospira) platensis* North. Geitl. Холодная экстракция : учебно-методическое пособие / Р. Г. Геворгиз, М. В. Нехорошев ; РАН, Ин-т морских биологических исследований им. А. О. Ковалевского. – Севастополь: ФГБУН ИМБИ, 2017. – 21 с.

Кафедра «Технологии и оборудование пищевых и химических производств» ФГБОУ ВО «ТГТУ»