

УДК 602.4:582.232:547.979.731

## ВМІСТ ХЛОРОФІЛУ У БІОМАСІ СПІРУЛІНИ ЗА ДІЇ РІЗНИХ ДОЗ МІКРОЕЛЕМЕНТІВ У ПОЖИВНОМУ СЕРЕДОВИЩІ

Г. В. Мерзлова  
merzlovagv@ukr.net

Білоцерківський національний аграрний університет,  
пл. Соборна, 8/1, м. Біла Церква, 09117, Київська обл., Україна

*Біомаса спіруліни містить абсолютно всі речовини, які необхідні тваринам для нормальної життєдіяльності. Ряд особливих речовин — біопротектори, біокоректори і біостимулятори — не зустрічаються більше ні в одному продукті натурального походження. Це обумовлює феноменальні властивості спіруліни як продукту харчування та лікувально-профілактичного засобу широкого спектра дії. Спіруліна є універсальним біопротектором і біокоректором системної дії.*

*Спіруліна з допомогою синьо-зелених пігментів, один з яких називається *Phykozyan* (синій), а другий — *Chlorophyll* (зелений), перетворює променисту енергію сонця в енергію хімічних зв'язків з утворенням складних органічних речовин з вуглекислого газу і води. Цей синтетичний процес робить спіруліну чистим, простим і разом з тим надзвичайно високоякісним і комплексним продуктом харчування та цінною кормовою добавкою.*

*Фотосинтез у спіруліни, як у всіх фотоавтотрофних організмів відіграє важливе значення, тому, нами було проведено дослідження визначення вмісту хлорофілу у біомасі *Spirulina platensis* за дії різних концентрацій Цинку та Кобальту в поживному середовищі.*

*За дії Цинку у концентрації 6,0 мг/л до 8 доби спостерігається стимулювання синтезу хлорофілу, а високі дози металу 12,0 мг/л та 24,6 мг/л після шостої доби культивування призводять до інгібування синтезу хлорофілу.*

*Із підвищенням дози Кобальту у поживному середовищі від 0,68 мг/л до 7,0 мг/л встановлена закономірність щодо зростання концентрації хлорофілу у біомасі *Spirulina platensis*. За подальшого нарощування дози цього металу у поживному середовищі дана закономірність зникає.*

**Ключові слова:** БІОМАСА, КОБАЛЬТ, СПІРУЛІНА, ПОЖИВНЕ СЕРЕДОВИЩЕ, ХЛОРОФІЛ, ЦИНК

## CHLOROPHYLL IN SPIRULINA BIOMASS FOR ACTION DIFFERENT DOSES OF TRACE ELEMENTS IN THE CULTURE MEDIA

G. V. Merzlova  
merzlovagv@ukr.net

Bilotserkivskiy national agrarian university,  
pl. Soborna, 8/1, Bila Cherkva, 09117, Kyiv region, Ukraine

*Biomass of Spirulina contains absolutely all substances that are necessary for normal functioning of animals. A number of special substances — bioprotectors, biocorrector and stimulators — not found in any of the product of natural origin. This causes the phenomenal properties of spirulina as food and health care product of a wide spectrum of action. Spirulina is a versatile bioprotector, biocorrector and systemic effects.*

*Spirulina using blue and green pigments, one of which is called *Phykozyan* (blue), and the second — *chlorophyll* (green), converts the radiant energy of the sun into the energy of chemical bonds to form complex organic substances from carbon dioxide and water. This synthetic process makes spirulina clean, simple, yet extremely high and complex valued food and feed additive.*

*Photosynthesis of Spirulina, like all organisms fotoavtotrofnyh counts, so we conducted a study determining the chlorophyll content in the biomass of Spirulina platensis on exposure to different concentrations of zinc and cobalt in the nutrient medium.*

*By the action of zinc in concentrations of 6.0 mg/l to 8 days to stimulate the synthesis of chlorophyll occurs, and a high dose of metal 12.0 mg/l and 24.6 mg/l after six days of cultivation leads to inhibition of the synthesis of chlorophyll.*

*With increasing doses of cobalt in the nutrient medium of 0.68 mg/l to 7.0 mg/l set pattern of increase in the concentration of chlorophyll biomass in Spirulina platensis. By further increasing the dose of the metal in the nutrient medium, this pattern disappears.*

**Keywords:** BIOMASS, COBALT, SPIRULINA, ANUTRIENT MEDIUM, CHLOROPHYLL, ZINC

## СОДЕРЖАНИЕ ХЛОРОФИЛЛА В БИОМАССЕ СПИРУЛИНЫ ЗА ДЕЙСТВИЯ РАЗЛИЧНЫХ ДОЗ МИКРОЭЛЕМЕНТОВ В ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЕ

Г. В. Мерзлова  
merzlovagv@ukr.net

Белоцерковский национальный аграрный университет,  
пл. Соборная, 8/1, г. Белая Церковь, 09117, Киевская обл., Украина

*Биомасса спирулины содержит абсолютно все вещества, которые необходимы животным для нормальной жизнедеятельности. Ряд особых веществ — биопротекторы, биокорректоры и биостимуляторы — не встречаются больше ни в одном продукте натурального происхождения. Это обуславливает феноменальные свойства спирулины как продукта питания и лечебно — профилактического средства широкого спектра действия. Спирулина является универсальным биопротектором и биокорректором системного действия.*

*Спирулина с помощью сине-зеленых пигментов, один из которых называется Рфикозуан (синий), а второй — Chlorophyll (зеленый), превращает лучистую энергию Солнца в энергию химических связей с образованием сложных органических веществ из углекислого газа и воды. Этот синтетический процесс делает спирулину чистым, простым и вместе с тем чрезвычайно высококачественным и комплексным продуктом питания и ценной кормовой добавкой.*

*Фотосинтез в спирулины, как у всех фотоавтотрофных организмов имеет важное значение, в связи с этим, нами было проведено исследование для определения содержания хлорофилла в биомассе Spirulina platensis за действия различных концентраций Цинка и Кобальта в питательной среде.*

*При действии Цинка в концентрации 6,0 мг/л до 8 суток наблюдается стимулирование синтеза хлорофилла, а высокие дозы металла 12,0 мг/л и 24,6 мг/л после шести суток культивирования приводят к ингибированию синтеза хлорофилла.*

*С повышением дозы Кобальта в питательной среде от 0,68 мг/л до 7,0 мг/л установлена закономерность роста концентрации хлорофилла в биомассе Spirulina platensis. При дальнейшем наращивании дозы этого металла в питательной среде данная закономерность исчезает.*

**Ключевые слова:** БИОМАССА, КОБАЛЬТ, СПИРУЛИНА, ПИТАТЕЛЬНЫЕ СРЕДЫ, ХЛОРОФИЛЛ, ЦИНК

Спіруліна містить у своєму складі три пігменти — барвника: каротиноїди, хлорофіл і фікоціанін, які допомагають організму клітини синтезувати багато

ферментів, необхідних для регулювання метаболічних процесів [1–3].

Перетворюючи енергію сонячного світла, хлорофіл відіграє дуже важливу роль в житті рослин. Біологічне значення

хлорофілу полягає в тому, що зелений пігмент рослин, вловлює енергію сонячного світла і здійснює фотосинтез [4].

Вчені виявили дивовижну схожість в будові молекули хлорофілу і гемоглобіну — основного дихального пігменту крові людини. Єдина відмінність полягає в тому, що в центрі хелатного комплексу в хлорофілі знаходиться атом Магнію, а в гемоглобіні — Феруму. Тому хлорофіл має здатність чинити на кров вплив подібний з дією гемоглобіну: підвищувати рівень кисню, прискорювати азотистий обмін. Хлорофіл зміцнює клітинні мембрани, сприяє формуванню сполучних тканин, що допомагає в загоєнні ерозій, виразок, пошкодження клітин. Хлорофіл підсилює імунну функцію організму, прискорюючи фагоцитоз. Крім цих якостей, хлорофіл здатний запобігати патологічним змінам молекул ДНК.

Хлорофіл — основне джерело органічного заліза, а в поєднанні з комплексом речовин, які містяться в спіруліні він сприяє біосинтезу гемоглобіну, що дозволяє в короткий термін нормалізувати функцію кровотворних органів. Хлорофіл бере також участь в детоксикації організму. У складі хлорофілу є вітамін К, що робить його прекрасним засобом для профілактики сечокам'яної хвороби, так як він стримує утворення кристалів оксалату кальцію в сечі. Хлорофіл виводить з організму токсини, а також діє як слабкий сечогінний засіб. Підвищує функцію щитовидної і підшлункової залоз. Допомагає при анемічних станах, регулює кров'яний тиск, підсилює роботу кишечника, знижує нервозність. Хлорофіл необхідний організму, який отримує мало сонячного світла. Виявлено ефект від застосування хлорофілу особливо при нейродерміті, і астматичному бронхіті проявлявся вже в перший місяць прийому. Хороші результати дає хлорофіл при загоєнні виразки шлунка і виразки 12-палої кишки.

Вміст хлорофілу в спіруліні в 100 разів більше, ніж у звичайних овочах. Хлорофіл регулює обмін речовин в

організмі, очищає кров, підвищує здатність протистояти кисневому голодуванню [5, 6].

Біомаса *Spirulina platensis* здатна акумулювати з поживного середовища метали-біотики такі як Цинк та Кобальт [7], які, у свою чергу, є важкими металами. Ці метали в залежності від їх концентрації можуть блокувати активні центри ензимів, які приймають участь у синтезі в клітинах спіруліни хлорофілу.

Тому, нашою метою було дослідження визначення хлорофілу у біомасі спіруліни за дії різних концентрацій мікроелементів у поживному середовищі.

### Матеріали і методи

Для досліджень використовували чисту культуру трихомної ціанобактерії *Spirulina platensis* (Gom.) Geitl. штам ЛГУ-603, депонованої з колекції культур Ботанічного Інституту Ленінградського університету.

Біомасу ціанобактерій культивували на модифікованому поживному середовищі Заррука [8] в умовах закритого типу за цілодобового освітлення з допомогою люмінесцентних ламп потужністю 40 Вт кожна. Період дослідження становив 10 діб. Під час вирощування культури *Spirulina platensis* поживне середовище постійно перемішували за допомогою компресора з барбітажними трубками.

Культивування спіруліни проводили в скляних ємностях типу прямокутника. До контрольних середовищ вносили кобальт азотнокислий у дозі 0,069 мг/л згідно рецептури Заррука. У I дослідні середовища солі металу вносили у кількості 0,69 мг/л. До II і III дослідних середовищ вносили сіль металу, що забезпечувало дозу елемента вищу ніж у контролі відповідно у 30 та 60 раз. IV дослідні середовища виготовлялись із вмістом кобальту азотнокислого 5,52 мг/л, вміст металу був у 80 раз вищим у порівнянні із контрольним варіантом. У V та VI дослідних середовищах концентрація Кобальту була вищою у порівнянні із контролем відповідно у 100 та 120 раз.

Під час дослідження технології одержання біомаси *Spirulina platensis* збагаченої Цинком у контролі для культури застосовували стандартне поживне середовище із вмістом цинку сульфату 0,23 мг/л. До I і II дослідних середовищ додатково вносили цинк сульфат. Концентрація солі становила 6,21мг/л та 9,20 мг/л поживного середовища. Уміст цинку сульфату у III та IV дослідних середовищах відповідно становив 12,42 мг/л та 25,30 мг/л.

Оптичну густину поживного середовища разом із культурою

одноклітинних водоростей визначали впродовж усього експерименту за допомогою приладу ФЕК-56М. Визначення хлорофілу проводили згідно з методикою [9].

### Результати й обговорення

Враховуючи те, що фотосинтез у життєдіяльності спіруліни відіграє важливе значення нами було проведено дослідження визначення вмісту хлорофілу у біомасі *Spirulina platensis* за дії різних концентрацій Цинку у поживному середовищі (табл. 1).

Таблиця 1

#### Вміст хлорофілу у біомасі спіруліни за дії різних доз Цинку у поживному середовищі, мг/г сухої речовини

Доба культивування	Вміст Цинку у поживному середовищі, мг/л				
	I дослідне поживне середовище (6,0±0,08)	II дослідне поживне середовище (9,0±0,11)	III дослідне поживне середовище (12,0±0,14)	IV дослідне поживне середовище (24,6±0,25)	Контрольне поживне середовище (0,22±0,07)
2	1,9±0,07	1,8±0,05	1,7±0,11	1,7±0,09	1,8±0,03
4	2,5±0,09*	2,4±0,12	2,0±0,09	2,2±0,13	2,1±0,07
6	2,9±0,03**	2,5±0,12	2,2±0,03	2,0±0,11	2,4±0,05
8	2,8±0,09	2,3±0,12	2,0±0,05	1,8±0,07**	2,6±0,13
10	2,6±0,12**	1,9±0,07***	1,6±0,05***	0,9±0,05***	3,3±0,04

Примітка: у цій та наступній таблицях \* —  $p < 0,05$ ; \*\* —  $p < 0,01$ ; \*\*\* —  $p < 0,001$

За дії Цинку у дослідних поживних середовищах на другу добу культивування не відмічалось зниження або нарощування вмісту хлорофілу у клітинах спіруліни даний показник був у межах 1,7–1,9 мг/г сухої речовини.

На четверту добу на вірогідну величину зростає концентрації хлорофілу у клітинах із I дослідного поживного середовища. Цей показник був вищим ніж у II, III, IV дослідному та контрольному поживному середовищі, відповідно, на 4,1 %; 25,0; 13,6 та 19,0 %. У другому поживному середовищі різниця із контролем становила 14,2 % проте ця величина мала лише характер тенденції. Концентрація хлорофілу за дії Цинку у III і IV дослідному поживному середовищі була на рівні контролю. Встановлено, що у дослідних та контрольному поживному

середовищі вміст хлорофілу на четверту добу був вищим у порівнянні із другою добою культивування культури, відповідно, на 31,5 %; 33,3; 17,6; 29,4 та 16,6 %.

Дослідження вмісту хлорофілу у біомасі спіруліни на шосту добу культивування показало, що на вірогідну величину вміст цієї сполуки зростає лише у I дослідному поживному середовищі. Різниця із контролем становила 20,8 %. У I; II, III дослідному та контрольному поживному середовищі вміст хлорофілу зріс порівняно із четвертою добою, відповідно, на 16,0 %; 4,1; 10,0 та 14,3 %. Слід відмітити, що за дози Цинку 24,6 мг/л поживного середовища на шосту добу вміст хлорофілу у біомасі зменшується на 9,1 % відносно четвертої доби культивування. Це може пояснюватись тим, що кумуляція Цинку призводить до

відмирання клітин спіруліни, а відповідно і до розпаду хлорофілу.

Дослідження на восьму добу показало, що у всіх дослідних поживних середовищах у біомасі спіруліни вміст хлорофілу зменшується відносно шостої доби культивування, відповідно, на 3,4 %; 8,0; 9,1 та 10,0 %. Встановлено, що концентрація хлорофілу у клітинах *Spirulina platensis* із IV дослідного поживного середовища була меншою на 30,7 % ( $p < 0,01$ ) відносно показників контролю. У II і III поживному середовищу виявлена тенденція щодо зменшення вмісту хлорофілу у клітинах спіруліни по відношенню до клітин у контрольному поживному середовищі.

На десяту добу культивування за дії Цинку вміст хлорофілу у спіруліні із I; II, III та IV дослідних поживних середовищ зменшувався відносно восьмої доби

культивування, відповідно, на 7,1 %; 17,3; 20,0 та у 2 рази. Встановлено, що за дії металу вміст хлорофілу у клітинах I; II, III та IV дослідних поживних середовищах зменшується відносно показників контролю, відповідно, на 21,2 % ( $p < 0,01$ ); 42,4 ( $p < 0,001$ ); у 2,06 ( $p < 0,001$ ) та 3,7 ( $p < 0,001$ ) рази.

Експериментально встановлено, що вміст хлорофілу у клітинах спіруліни залежав від концентрації Кобальту у поживному середовищі. За дії Кобальту у концентрації 0,68 мг/л синтез хлорофілу впродовж дослідного періоду був на рівні контролю. Під впливом дози Кобальту 2,0 мг/л концентрація хлорофілу у культурі спіруліни на дев'яту добу культивування підвищується на 6,4 % по відношенню до контролю. На третю та шосту добу за цієї концентрації металу вміст хлорофілу не відрізнявся від показників контролю (табл. 2).

Таблиця 2

**Вміст хлорофілу у біомасі спіруліни за дії різних доз Кобальту у поживному середовищі, мг/г сухої речовини**

Поживне середовище	Концентрація Кобальту у поживному середовищі, мг/л	Час культивування, днів		
		3	6	9
I дослідне поживне середовище	0,68±0,012	2,0±0,04	2,30±0,09	3,0±0,13
II дослідне поживне середовище	2,00±0,080	2,1±0,07	2,4±0,13	3,3±0,18
III дослідне поживне середовище	4,00±0,105	2,2±0,05	2,6±0,11	3,4±0,05*
IV дослідне поживне середовище	5,50±0,211	2,1±0,10	2,5±0,12	3,4±0,04*
V дослідне поживне середовище	7,00±0,115	2,3±0,07	2,8±0,03**	3,6±0,06**
VI дослідне поживне середовище	8,30±0,206	2,3±0,09	2,9±0,06***	3,3±0,04
Контрольне поживне середовище	0,04±0,025	2,1±0,04	2,4±0,05	3,1±0,06

Використання дози Кобальту 4,0 мг/л супроводжувалось зростанням вмісту хлорофілу у біомасі *Spirulina platensis* на третю, шосту та дев'яту добу, відповідно, на 1,0 %; 8,3 та 9,7 % ( $p \leq 0,05$ ) відносно культури, яку вирощували на контрольних поживних середовищах. На вірогідну величину зростає вміст хлорофілу у спіруліні на дев'яту добу культивування на поживному середовищі із умістом Кобальту 5,5 мг/л, різниця із контролем становила 9,7 %.

Виявлено, що культивування спіруліни на поживному середовищі із

вмістом Кобальту 7,0 мг/л (V дослідне поживне середовище) на шосту і дев'яту добу призводить до підвищення вмісту хлорофілу у культурі, відповідно, на 16,7 % ( $p \leq 0,01$ ) та 16,1 % ( $p \leq 0,01$ ) відносно контролю.

За умов внесення у поживне середовище Кобальту у концентрації 8,3 мг/л на шосту добу спостерігається зростання вмісту хлорофілу на 20,8 % ( $p < 0,001$ ) щодо показників контролю. За цієї самої концентрації металу на третю та дев'яту добу вміст хлорофілу у культурі підвищується відносно контролю,

відповідно, на 9,5 % та 6,4 %. Проте різниця носила характер лише тенденції. Слід відмітити, що вміст хлорофілу у культурі на дев'яту добу вирощування у VI дослідному поживному середовищі був меншим по відношенню до спіруліни із V дослідного середовища на 8,3 %. Проте на шосту добу культивування цей показник був вищим на 3,5 %. Це може пояснюватись тим, що за високої дози метал акумулюється у культурі і це негативно вплинуло на синтез хлорофілу у клітинах спіруліни.

Із підвищення дози Кобальту у поживному середовищі від 0,68 мг/л до 7,0 мг/л встановлена закономірність щодо зростання концентрації хлорофілу у біомасі *Spirulina platensis*. За подальшого нарощування дози цього металу у поживному середовищі дана закономірність зникає.

### Висновки

1. Встановлено, що Кобальт у оптимальних дозах проявляє стимулюючу дію щодо синтезу хлорофілу у клітинах спіруліни. Крім того, виявлено, що вміст хлорофілу у культурі залежить від віку самих клітин.

2. За дії Цинку у концентрації 6,0 мг/л до 8 доби спостерігається стимулювання синтезу хлорофілу, а високі дози металу 12,0 мг/л та 24,6 мг/л після шостої доби культивування призводять до інгібування синтезу хлорофілу.

**Перспективи подальших досліджень.** У подальшому буде досліджено кратність промивання біомаси спіруліни, яку культивували на поживному середовищі із підвищеним вмістом Цинку та Кобальту, на вміст металів у сухій масі водорості.

1. Khan Z., Bhadouria P., Bisen P. S. Nutritional and therapeutic potential of *Spirulina*.

*Curr. Pharm. Biotechnol.*, 2005, no. 5, pp. 373–379.

2. Baldia S. F., Nishijima T., Hata Y., Fukami K. Growth characteristics of a blue-green alga *Spirulina platensis* for nitrogen utilization. *Nippon Suisan Gakkaishi*, 1991, no. 57 (4), pp. 645–654.

3. Husev M. V. Sravnitelnaia fiziologiya sinezelenykh vodoroslei [Comparative physiology of blue-green algae]. *Uspehi mikrobiologii — Success microbiology*, 1966, no. 3, pp. 74–103 (in Russian).

4. Litchenthaler H. K. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in enzymology. San Diego: Acad. Pres.*, 1987, vol. 148, pp. 350–381.

5. Drobetskaia I. V., Miniuk H. S., Trenkenshu R. P., Vialova O. Yu. Rostobyie I biohimicheskie kharakteristiki *Spirulina platensis* (Nordst.) Geitler pri razlichnykh usloviakh mineralnogo pitaniia [Rostovye and biochemical characteristics of *Spirulina platensis* (Nordst.) Geitler in terms different mineralnye nutrition]. *Ekolohiia moria — Marine Ecology*, 2001, vol. 56, pp. 41–46 (in Ukrainian).

6. Mendzhul M. I., Koltukova N. V., Lysenko T. H. Vliianiie nekotorykh fiziko-himicheskikh faktorov na rost *Spirulina platensis* (Gom.) Geit. (Cyanophyta) [Effect nekotorykh physico-chemical factors on the growth of *Spirulina platensis* (Gom.) Geit. (Cyanophyta)]. *Alholohiia — Alholohiya*, 1991, vol. 1, no. 4, pp. 40–45 (in Ukrainian).

7. Merzlova H. V., Melnychenko O. M. Dynamika rostu kultury *Spirulina platensis* za riznykh kontsentratsii Kobaltu v pozhyvnomu seredovyskhi [Dynamics of *Spirulina platensis* culture in different concentrations of cobalt in the nutrient medium]. *Science. Herald — LNUVMBT them. SZ Gzhytskyi*, 2012, vol. 14, no. 2 (52), part 2, pp. 265–269 (in Ukrainian).

8. Zarrouk C. *Contribution à l'étude d'une cyanophycée. Influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la croissance et photosynthèse de Spirulina maxima Geitler*. Ph.D thesis. Paris, 1966, 114 p. (in France).

9. Petrov K. P. *Metody biokhimii rastitelnykh produktov* [Methods of biochemistry of plant products]. Kiiiev, Vyshcha shkola Publ., 1987. 224 p. (In Ukrainian).