В.А. ЦЫГАНКОВА[1], *кандидат биологических наук*; С.П. ПОНОМАРЕНКО[2], *кандидат химических наук*; А.П. ГАЛКИН[3], *доктор биологических наук*; А.И. ЕМЕЦ[3], *доктор биологических наук*
[1] Институт биоорганической химии и нефтехимии НАН Украины, г. Киев
[2]Межведомственный научно-технологический центр «Агробиотех» НАН и МОН Украины, г. Киев
[3] Институт пищевой биотехнологии и геномики НАН Украины, г. Киев

ИНДУКЦИЯ РЕГУЛЯТОРАМИ РОСТА РАСТЕНИЙ ПРИРОСТА БИОМАССЫ И СИНТЕЗА ПОЛИФРУКТАНОВ В КУЛЬТУРАХ „БОРОДАТЫХ КОРНЕЙ" ЦИКОРИЯ

Подобраны еффективные концентрации регуляторов роста растений (РРР) Ивин, Эмистим, Биолан и Чаркор при их использовании в питательных средах для интенсификации роста биомассы и повышения синтеза полифруктанов (ПФ) в культурах «бородатых корней» цикория (*Cichorium intybus* L.), трансформированных *Agrobacterium rhizogenes*. Наилучшие показатели повышения удельного содержания ПФ в корнях наблюдаются при использовании Биолана в концентрации 5 мкл/л (до 130 мг/г сухой массы корней) и Эмистима в концентрации 2,5 мкл/л (до 220 мг/г сухой массы корней). Наивысшую стимулирующую рост корней активность проявляют регуляторы роста Эмистим, Ивин и Чаркор - в концентрациях 2,5 – 10 мкл/л значительно повышают общее количество ПФ: до 35 раз по сравнению с контролем (регулятор Эмистим), до 28 раз (регулятор Ивин) и до 8,0-8,7 раз за 30 дней (регулятор Чаркор). Полученные результаты подтверждают возможность использования данных РРР для повышения прироста биомассы и синтеза ПФ в культурах „бородатых корней" цикория.

БИОХИМИЯ РАСТЕНИЙ

УДК 665.939.35:664.8.022

Л.А. ЧЕРНОВА[1]; В.Г. ГОРБАНЬ[1], *кандидат технических наук*; С.П. АНТОНЕНКО[1]; И.Н. ГУДВИЛОВИЧ[2], *кандидат биологических наук*; А.Б. БОРОВКОВ[2], *кандидат биологических наук*
[1]Харьковский государственный университет питания и торговли, г. Харьков
[2]Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского НАН Украины, г. Севастополь

ПОЛУЧЕНИЕ МАСЛЯНОГО ЭКСТРАКТА КАРОТИНОИДОВ ИЗ МИКРОВОДОРОСЛИ *DUNALIELLA SALINA* TEOD.

Экспериментально обоснованы этапы технологии получения масляного экстракта β-каротина на основе биомассы микроводоросли D. salina. Разрабатываемая технология включает как культивирование D. salina для получения сырья, так и этап экстракции, для которого экспериментально определены: оптимальный экстрагент, температурный режим и длительность экстракции, а также оптимальные соотношения сырья и экстрагента, способствующие повышению эффективности экстракции пигмента.

Ключевые слова: *β-каротин, Dunaliella salina, масляный екстракт.*

Введение

Несбалансированность современного питания, неспособность обеспечить организм человека необходимым количеством эссенциальных веществ является глобальной проблемой. Отмечено, что в организм детей витамина А поступает на 40–70% меньше рекомендованных норм [7].

Развитие пищевой промышленности характеризуется высоким уровнем потребления пищевых красителей, в том числе β-каротина. Чаще всего используют импортное синтетическое соединение, которое может содержать примеси используемых при его синтезе веществ, в той или иной мере токсичных. Альтернативой ему является природный β-каротин из растительного сырья. Сдерживающими факторами широкого использования последнего являются его низкое содержание в сырье, зависимость накопления от природно-климатических условий, сложность регулирования этого процесса.

В последние десятилетия в качестве источника природного β-каротина рассматривается Дуналиелла солоноводная (*Dunaliella salina* Teod.). Этот вид одноклеточных зеленых водорослей, обитающих преимущественно в гиперсолёных водоемах, известен своей способностью накапливать от 0,5 до 10% β-каротина на сухое вещество [5, 9]. β-каротин *D. salina* имеет высокую биологическую активность благодаря изомерному составу, которого невозможно добиться путем химического синтеза [10, 11]. По предварительной оценке, запас каротиноидов в солесадочных бассейнах достигает 38 кг/га [4]. Однако использование природных соленых водоемов не может удовлетворить постоянно растущую потребность в каротине. Кроме того, промышленное использование естественных водоемов всегда связано с риском нанесения непоправимого ущерба их экосистеме. В связи с этим решается проблема интенсификации продуктивности рапохранилищ и организации искусственного выращивания каротиноносной водоросли в промышленном масштабе.

Целью работы была разработка технологических приёмов получения масляного экстракта β-каротина на основе нетрадиционного сырья – биомассы микроводоросли *D. salina*.

Объекты и методы исследования

В процессе работы была использована зеленая галофильная микроводоросль *D. salina* (штамм IBSS-1) из коллекции культур ИнБЮМ НАН Украины.

Микроводоросли выращивали в стеклянных фотобиореакторах плоскопараллельного типа объемом 6 л с рабочей толщиной 5 см. Объем суспензии в каждом культиваторе поддерживали на уровне 5 л. Первоначально культуру *D. salina* выращивали в накопительном режиме на модифицированной питательной среде Тренкеншу [3] с концентрацией морской соли в растворе 120 г·дм$^{-3}$. Первый этап длился до стационарной фазы роста и исчерпания в среде элементов минерального питания. На этом этапе освещенность рабочей поверхности культиваторов составляла 80 Вт·м$^{-2}$, температура 26–28°С. Далее увеличивали поверхностную освещенность культуры (до 200 Вт·м$^{-2}$) и соленость среды (до 240 г·дм$^{-3}$).

Содержание сухого вещества (СВ) в культуре определяли объемно-весовым [8], а также фотометрическим методами [3, 6]. Определяемые показатели химического состава выражали в пересчете на органическое вещество (ОВ), вычитая из массы навески, высушенной при 105°С, массу зольного остатка. Массовую долю зольного остатка в сырой биомассе микроводорослей определяли весовым методом по [6]. Содержание каротиноидов определяли спектрофотометрическим методом по Wellburn [12]. Отсепарированная и высушенная при t = 40°С биомасса дуналиеллы служила сырьем для дальнейшей экстракции β-каротина. Экстракция β-каротина из биомассы микроводоросли проводилась статическим периодическим методом путем

трехкратного настаивания со сменой экстрагента [1] и предварительной гомогенизацией смеси. В процессе извлечения каротиноидов были обеспечены условия, предотвращающие его изменение при воздействии света и повышенной температуры.

Для выбора оптимального экстрагента экстракцию β-каротина проводили разными видами масел: рафинированным дезодорированным подсолнечным, кукурузным и соевым. Условия проведения процесса: соотношение твёрдой и жидкой фаз 1:20, температура 30°С, длительность 24 часа. При изучении влияния температуры на эффективность экстракции смесь биомассы микроводоросли и подсолнечного масла в соотношении 1:20 настаивали в течение суток при температурах 10, 20, 30, 40, 50, 60°С. Исследование режимов экстракции β-каротина из биомассы *D. salina* проводилось при различных соотношениях твердой и жидкой фаз (1:10; 1:20; 1:30; 1:40) и длительности процесса (1–6 суток). Для определения концентрации β-каротин извлекали из экстрактов этилацетатом. Оптическую плотность растворов определяли фотоколориметрически [2].

Результаты и обсуждение

Культивирование *D. salina* в эксперименте было организовано от первоначальной плотности культуры 0,42 г ОВ $л^{-1}$. Плотность культуры за 45 суток эксперимента значительно не изменилась, её значение к концу этого периода стабилизировалось на уровне 0,45 г ОВ · $л^{-1}$ (рис. 1).

За 40 суток выращивания микроводоросли *D. salina* на втором этапе массовая доля β-каротина в ее клетках возросла с 0,5% до 4% на органическое вещество (см. рис. 1).

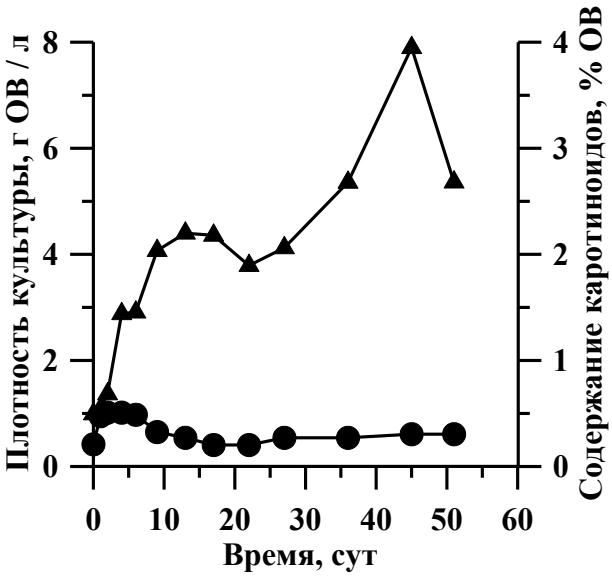


Рис. 1. Динамика содержания суммарных каротиноидов (▲) и плотности культуры (●) *Dunaliella salina* на второй стадии накопительного культивирования микроводоросли

Современные технологии извлечения β-каротина из биомассы микроводоросли *D. salina* заключаются в экстрагировании токсичными органическими растворителями, что усложняет использование его в пищевых целях. Нами была исследована возможность экстракции каротина из высушенной массы микроводоросли природными экстрагентами – растительными маслами. Экстракция пищевыми маслами позволяет

одновременно с каротиноидами извлечь и другие жирорастворимые биологически активные вещества, в частности, полиненасыщенные жирные кислоты и токоферолы.

В качестве способа экстракции был выбран статический периодический способ, не требующий значительных затрат оборудования и материалов. Для выбора оптимального экстрагента проводили экстракцию β-каротина из биомассы микроводоросли разными видами масел: рафинированным дезодорированным подсолнечным, кукурузным и соевым. Установлено, что максимальная экстракция обеспечивается кукурузным и подсолнечным маслами (табл. 1), однако из-за доступности приоритетным было выбрано подсолнечное масло.

Таблица 1.

Содержание β-каротина в масляных экстрактах из биомассы микроводоросли *Dunaliella salina*

Экстрагент	Содержание β-каротина, мг/100г экстракта
Подсолнечное масло	61,8±2,5
Кукурузное масло	64,6±2,6
Соевое масло	55,5±2,2

Экспериментальным путем исследовали влияние соотношения твердой и жидкой фаз и продолжительности настаивания на эффективность экстракции β-каротина. Показано, что интенсивность перехода β-каротина в масло зависит от длительности процесса экстрагирования (рис. 2).

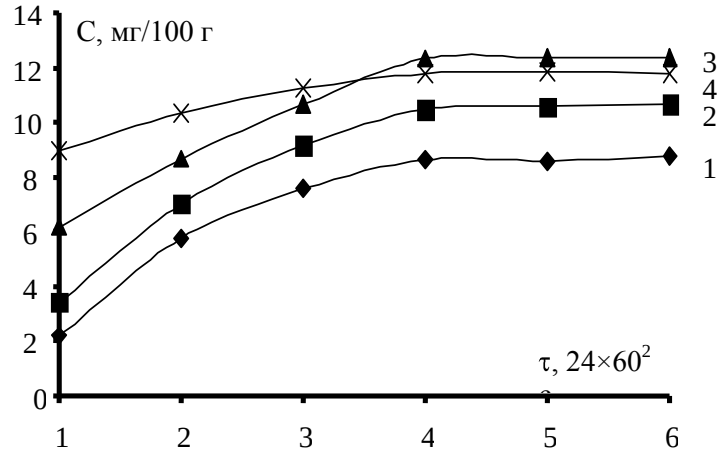


Рис. 2. Динамика накопления β-каротина в экстракте при соотношении твердой и жидкой фаз: 1 – 1:40; 2 – 1:30; 3 – 1:20; 4 – 1:10

С 1-х по 4-е сутки массовая доля β-каротина во всех исследуемых образцах возрастает, а в дальнейшем – существенно не увеличивается. Установлено, что количество β-каротина, содержащегося в масле, зависит от соотношения твердой и жидкой фаз. Показано, что для максимального экстрагирования β-каротина при исследуемых условиях оптимальным является соотношение порошка микроводоросли и масла 1:20 (см. рис. 2). В данном варианте опыта после 4-х дней экстрагирования зафиксировано наибольшее содержание β-каротина, которое составило 123,6±4,9 мг/100г (см. рис. 2).

Также изучали влияние температуры на эффективность экстракции β-каротина. Экспериментально показано, что скорость масляной экстракции β-каротина увеличивается с повышением температуры (рис. 3).

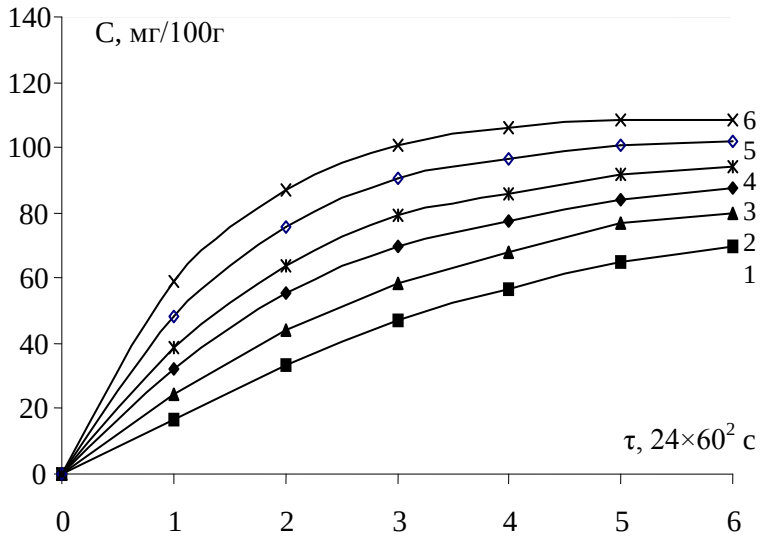


Рис. 3. Зависимость степени экстракции β-каротина от температуры: 1 – 10°C; 2 – 20°C; 3 – 30°C; 4 – 40°C; 5 – 50°C; 6 – 60°C

Однако учитывая, что повышение температуры способствует также термоокислению биологически активных веществ и накоплению продуктов окисления жиров, рациональной температурой экстракции была выбрана 30°C.

Так опытным путем были определены оптимальные режимы процесса экстрагирования β-каротина из высушенной биомассы *D. salina* рафинированным дезодорированным подсолнечным маслом, а именно: соотношение сырье : экстрагент – 1:20, температура проведения процесса – 30°C, продолжительность – 4 сут. Полученный экстракт имеет жидкую консистенцию, темно-красный цвет и нейтральный запах. Такие органолептические показатели делают возможным его использование в широком ассортименте пищевых продуктов, а также как самостоятельную диетическую добавку.

Выводы

1. Предложены и апробированы этапы технологии получения масляного экстракта β-каротина из биомассы микроводоросли *D. salina*.
2. Определены оптимальные параметры получения масляного каротинсодержащего экстракта.
3. Для эффективной экстракции β-каротина из биомассы *D. salina* рекомендуются: экстрагент – подсолнечное масло, температура – 30°C, длительность экстракции – 4 суток, соотношение сырье : экстрагент – 1:20.

Список литературы

1. Аксельруд Г. А. Экстрагирование (система твердое тело – жидкость) / Г. А. Аксельруд, В. М. Лысянский. – Л.: Химия. – 1974. – 256 с.

2. Антоненко С. П. Изменчивость морфометрических признаков *Dunaliella salina* в условиях культуры / С. П. Антоненко, Т. В. Догадина, В. П. Комаристая // Экология моря. – 2010. – Вып. 81. – С. 5-12.

3. Боровков А. Б. Динамика пигментов и роста микроводорослей в хемостате на примере *Dunaliella salina* Teod.: автореф. дис. … канд. биол. наук / А. Б. Боровков. – Севастополь, 2008. – 28 с.

4. Гудвилович И. Н. Продукционные характеристики микроводорослей *Dunaliella salina* Teod. и *Porphyridium purpureum* (Bory) Ross. при интенсивном культивировании: автореф. дис. … канд. биол. наук / И. Н. Гудвилович. – Севастополь, 2011. – 25 с.

5. Масюк Н. П. Морфология, систематика, экология, географическое распространение рода *Dunaliella* Teod. / Н. П. Масюк. – К.: Наук. думка, 1973. – 487 с.

6. Методы физиолого-биохимического исследования водорослей в гидробиологической практике. – К.: Наук. думка, 1975. – 247 с.

7. Симахина Г. А. Социальные и экономические предпосылки создания в Украине индустрии здорового питания / Г. А. Симахина // Продукты и ингредиенты. – 2008. – №3. – С. 32-36.

8. Тренкеншу Р. П. Влияние элементов минерального питания на продуктивность водоросли *Platymonas viridis* Rouch. / Р. П. Тренкеншу, В. Н. Белянин // Биология моря. – 1979. – № 51. – С. 41-46.

9. Ben-Amotz A. Accumulation of β-carotene in halotolerant algae: purification and characterization of β-carotene-rich globules from *Dunaliella bardawil* (Chlorophyceae) / A. Ben-Amotz, A. Katz, M. Avron // J. Phycol. – 1982. – 18. – P. 529-537.

10. Ben-Amotz A. Bioavailability of a natural isomer mixture compared with synthetic all-trans β-carotene in human serum / A. Ben-Amotz, Y. Levy // Am. J. Clin. Nutr. – 1996. – 63. – P. 729-734.

11. Demming-Adams B. Antioxidants in photosynthesis and human nutrition / B. Demming-Adams, W.W. Adams // Science. – 2002. – V. 298. – P. 2149-2153.

12. Wellburn A. R. The Spectral determination of chlorophylls *a* and *b*, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution / A. R. Wellburn // J. Plant Phys. – 1994. – V. 144. – P. 307-313.

Статья поступила в редакцию 16.05.2013 г.

L.A. CHERNOVA[1]; V.G. GORBAN[1], *Ph.D. in Technology*; S.P. ANTONENKO[1], I.N. GUDVILOVYCH[2], *Ph.D. in Biology*; A.B. BOROVKOV[2], *Ph.D. in Biology*
[1]Kharkiv State University of Food Technology and Trade, Kharkiv, Ukraine
[2]Institute of Biology of the Southern Seas by A. O. Kovalevsky, the National Academy of Sciences of Ukraine, Sevastopol, Ukraine

OBTAINING OF CAROTENOIDS OIL EXTRACT FROM MICROALGAE *DUNALIELLA SALINA* TEOD.

Technology stages of β-carotene oil extraction from *D. salina* microalgae biomass have been proved experimentally. The technology includes both the cultivation of *D. salina* to produce raw material with high β-carotene content and the extraction, for which the optimal conditions (temperature and duration of extraction, the optimal ratio of material and extractant) that improve the efficiency of pigment extraction have been experimentally determined.

Л.О. ЧЕРНОВА [1]; В.Г. ГОРБАНЬ [1], *кандидат технічних наук*; С.П. АНТОНЕНКО [1]; І.М. ГУДВІЛОВИЧ [2], *кандидат біологічних наук*; А.Б. БОРОВКОВ [2], *кандидат біологічних наук*
[1]Харківський державний університет харчування та торгівлі, м. Харьків, Україна
[2]Інститут біології південних морів ім. О.О. Ковалевського НАНУ, м. Севастополь, Україна

ОТРИМАННЯ МАСЛЯНОГО ЕКСТРАКТУ КАРОТИНОЇДІВ З МІКРОВОДОРОСТІ *DUNALIELLA SALINA* TEOD.

Експериментально обґрунтовані етапи технології отримання масляного екстракту β-каротину на основі біомаси мікроводорості *D. salina*. Технологія включає як культивування *D. salina* для отримання сировини зі значним вмістом β-каротину, так і етап екстракції, для якого експериментально визначені: оптимальний екстрагент, температурний режим і тривалість екстракції, а також оптимальні співвідношення сировини і екстрагента, що сприяють підвищенню ефективності екстракції пігменту.

Л.А. ЧЕРНОВА[1]; В.Г. ГОРБАНЬ[1], *кандидат технических наук*; С.П. АНТОНЕНКО[1]; И.Н. ГУДВИЛОВИЧ[2], *кандидат биологических наук*; А.Б. БОРОВКОВ[2], *кандидат биологических наук*
[1]Харьковский государственный университет питания и торговли, г. Харьков, Украина
[2]Институт биологии южных морей им. А.О. Ковалевского НАН Украины, г. Севастополь, Украина

ПОЛУЧЕНИЕ МАСЛЯНОГО ЭКСТРАКТА КАРОТИНОИДОВ ИЗ МИКРОВОДОРОСЛИ *DUNALIELLA SALINA* TEOD.

Экспериментально обоснованы этапы технологии получения масляного экстракта β-каротина на основе биомассы микроводоросли *D. salina*. Разрабатываемая технология включает как культивирование *D. salina* для получения сырья со значительным содержанием β-каротина, так и этап экстракции, для которого экспериментально определены: оптимальный экстрагент, температурный режим и длительность экстракции, а также оптимальные соотношения сырья и экстрагента, способствующие повышению эффективности экстракции пигмента.

ФИЗИОЛОГИЯ РАСТЕНИЙ

УДК 582.71.1:58.032.3(477.75)

В.А. БРАИЛКО
Никитский ботанический сад – Национальный научный центр, г. Ялта, АР Крым

ХАРАКТЕРИСТИКА НЕКОТОРЫХ ПАРАМЕТРОВ ВОДНОГО РЕЖИМА ВЕЧНОЗЕЛЕНЫХ ВИДОВ РОДА *LONICERA* L. В УСЛОВИЯХ ЮЖНОГО БЕРЕГА КРЫМА

Статья посвящена комплексному исследованию некоторых особенностей водного режима вечнозеленых видов рода Lonicera при подборе устойчивых к засухе растений для развития декоративного садоводства. Проанализированы показатели общей оводненности, водоудерживающей способности и водного дефицита в зоне интродукции. На основе проведенного исследования предлагается выделить Lonicera pileata и садовую форму Lonicera nitida 'Elegant' как более засухоустойчивые виды,