

ПЕРСПЕКТИВИ ОТРИМАННЯ БІОЛОГІЧНО АКТИВНИХ СПОЛУК З *CHLORELLA VULGARIS* ЗА ДІЇ СПОЛУК МІКРОЕЛЕМЕНТІВ

Жук А.Д.

Тернопільський національний педагогічний університет імені В. Гнатюка

Науковий керівник – Бондар О.І., доктор біологічних наук,
доцент кафедри загальної біології та методики навчання природничих наук
Тернопільського національного педагогічного університету імені В. Гнатюка

Мікродорості на світовому ринку стають одним з найперспективніших джерел зеленої біомаси, з якої швидко та ефективно можна одержувати найрізноманітніші сполуки. Одноклітинна зелена водорість *Chlorella vulgaris* посідає першість як зручний та ефективний об'єкт для масового культивування мікродоростей, для фізіологічних, біохімічних, генетичних і біотехнологічних досліджень. Хлорела є активним продуцентом біомаси і містить повноцінний набір протеїнів, жирів, вуглеводів і вітамінів, тому входить у категорію «суперпродуктів» з широкими перспективами для майбутнього використання, як біологічно активних добавок (БАД) та фармацевтичних препаратів.

Водночас, висока здатність мікродоростей до біоаккумуляції сполук мікроелементів та утворення з ними біокомплексів дає перспективу для одержання біологічно активних сполук, які збагачені необхідними для організму мікроелементами, наприклад Селеном та іонами біогенних металів, що надходять у харчові ланцюги людини і тварин через продукти рослинного походження і відіграють значну роль у метаболізмі, який порушується за їх дефіциту.

З огляду на зазначене, метою роботи було вивчити внутрішньоклітинний розподіл Селену та іонів есенційних металів (Cu^{2+} , Fe^{3+} , Zn^{2+}) у зеленої одноклітинної водорості *Chlorella vulgaris* за умови її культивування з підвищеним вмістом зазначених мікроелементів у середовищі.

Проведені експерименти щодо вивчення зміни кількості загальної біомаси *Ch. vulgaris* та окремих органічних сполук з неї за дії натрію селеніту окремо та спільно з Цинком, Купрумом та Ферумом, засвідчили загалом позитивний вплив досліджуваних мікроелементів на продукційні характеристики культури водорості.

За дії натрій селеніту Se (IV) $10,0 \text{ мг/дм}^3$ окремо та спільно з іонами Cu^{2+} $0,002 \text{ мг/дм}^3$ та Fe^{3+} $0,008 \text{ мг/дм}^3$ збільшення кількості загальної біомаси було незначним – в межах статистичної похибки: 5,2-6,6%, тоді як за дії Zn^{2+} $5,0 \text{ мг/дм}^3$ відбулося збільшення біомаси на 16,5%, що є суттєвим позитивним показником для біотехнологічного вирощування хлорели (табл. 1).

Таблиця 1 – Зміни загальної біомаси та вмісту органічних сполук різних класів у *Chlorella vulgaris* за дії селеніту натрію окремо та спільно з мікроелементами, 7 діб, $M \pm m$, $n=5$

Умови досліджу	Загальна біомаса, мг/дм ³	Вуглеводи, мг/г біомаси	Протеїни, мг/г біомаси	Ліпіди, мг/г біомаси
Контроль	132,7±6,5	67,7±4,0	26,5±1,8	23,9±1,2
Se	141,5±4,1	73,9±2,9*	32,8±1,7	29,6±1,2
Se + Zn	154,6±6,3*	80,4±4,1*	34,7±1,7*	35,2±1,1*
Se + Cu	140,2±4,1*	76,2±5,3	29,4±1,9	27,5±1,0*
Se + Fe	139,6±8,7	74,1±4,9	30,7±1,3*	29,3±1,0*

* – $p < 0,05$ різниця вірогідна порівняно з контролем

Вуглеводи як первинні продукти біосинтезу, що забезпечують стабільність життєвих процесів, найменше піддаються впливу зовнішніх чинників середовища культивування (див. табл. 1). Так, за дії Селену окремо та дії Селену з Ферумом їх кількість у клітинах *Chlorella vulgaris* збільшилася на 9,2-9,4%, за спільної дії Селену і Купруму – на 12,5%, а дії Селену і Цинку – на 18,7%.

Зазначимо також, що за дії селеніту окремо кількість протеїнів у клітинах водорості збільшилася на 23,7% стосовно контролю, за спільної дії селеніту і цинку сульфату – збільшилася на 30,9%, що було максимальним значенням. Спільна дія селеніту і феруму хлориду чи купруму сульфату показали дещо нижчі значення зростання кількості протеїнів у *Chlorella vulgaris*: за дії Se+Cu їх кількість збільшилася порівняно з контрольним варіантом на 10,9%, що є мінімальним значенням порівняно з дією мікроелементів в інших варіантів, за спільної дії Se+Fe – протеїнів виявилось на 15,8% більше як у контролі.

Щодо ліпідів, то на завершення експозиції кількість ліпідів у *Ch. vulgaris* за дії Селену збільшилася на 23,8%, за дії Селену і Цинку – на 47,3%, за дії Селену і Купруму – на 15,1% та за дії Селену і Феруму – на 22,6% порівняно з вмістом ліпідів у контрольних зразках.

Водночас з'ясовано, що за внесення селеніту натрію Se (IV) окремо вміст Селену у клітинах хлорели збільшився на 15,8%, а за спільної дії з Cu^{2+} , Zn^{2+} і Fe^{3+} – на 25,0%, 51,6% і 8,7% відповідно до контрольних значень. Вміст Селену у вуглеводах за дії селеніту окремо щодо контролю залишився практично незмінним, тоді як за спільної дії з Zn^{2+} , Cu^{2+} і Fe^{3+} збільшився відповідно на 11,2%, 41,3%, і 93,8% щодо контролю. Протеїни, як сполуки з великою кількістю функціональних груп різної хімічної природи, порівняно з вуглеводами активніше акумулювали Селен: за дії селеніту окремо вміст Se(IV) збільшився на 72,4%, а за спільної дії селеніту з Zn^{2+} – на 104,5%, з Cu^{2+} – на 34,4% та з Fe^{3+} – на 43,7% порівняно з контрольним зразком. Вміст Se (IV) в ліпідах хлорели за внесення селеніту натрію окремо збільшився на 53,8%, а за

спільної дії Zn^{2+} , Cu^{2+} і Fe^{3+} – відповідно на 102%, 250% і 126,5% порівняно з контрольними значеннями.

Разом з тим, проведені дослідження дозволили показати, що за культивування хлорели у середовищі з селенітом натрію ($10,0 \text{ mg Se (IV)/dm}^3$) та Zn^{2+} , Cu^{2+} і Fe^{3+} вміст останніх у біомасі водоростей суттєво збільшувався. Так, вміст Cu^{2+} збільшився у біомасі водоростей у 2,4 раза, Zn^{2+} – у 3,6 раза та Fe^{3+} – майже у 2 рази порівняно з їх вмістом у біомасі, вирощеної за стандартних умов культивування. У вуглеводах, порівняно з контролем, за спільної дії селеніту з лише цинком сульфатом кількість металу у них збільшилася – 28,6%, тоді як за спільної дії селеніту з купрум сульфатом і ферум хлоридом вміст цих металів залишався близьким до контролю в межах статистичної похибки. В протеїнах спостерігали підвищення накопичення досліджуваних металів за присутності селеніту практично у всіх варіантах досліду. Так, вміст Купруму і Цинку в протеїновій фракції збільшився у 2,3 раза, а Феруму – в 1,4 раза порівняно з контролем. Стосовно ліпідів, то вони акумулювали найбільшу кількість досліджуваних металів порівняно з вуглеводами та протеїнами. Вміст Купруму за спільної дії з селенітом збільшився в 1,9 раза, Цинку – в 2,9 раза, Феруму – майже в 1,2 раза щодо контрольних показників.

Зазначимо, що окремі класи ліпідів та жирні кислоти з мікрводоростей мають важливе практичне значення як частина збалансованого раціонального харчування або ж як лікувально-профілактичні біологічно активні добавки. У попередніх дослідах показано, що до складу ліпідів *Ch. vulgaris* активно включаються мікроелементи Селен, Цинк, Купрум та Ферум.

Тому для повноти дослідження важливо встановити особливості включення цих мікроелементів до складу різних класів ліпідів з метою підсилення комплексної дії потенційного ліпідного комплексу фізіологічно важливими хімічними елементами.

Встановлено, що вміст селену як за дії селеніту окремо, так і спільно з іонами досліджуваних металів, збільшувався щодо контрольних значень у ліпідах усіх фракцій. Вміст селену у фосфоліпідах збільшився у 2,4 рази за дії селеніту окремо, а за спільної дії з Cu^{2+} , Zn^{2+} і Fe^{3+} – відповідно у 5,2; 4,5 і 2,7 рази контролю. Диацилгліцероли накопичували меншу кількість селену за дії селеніту окремо (на 13%) та спільно з Zn^{2+} (на 85,1%), тоді як за спільної дії селеніту з Cu^{2+} і Fe^{3+} вміст Se збільшився у 4,3 та у 3,4 рази порівняно з контрольними значеннями. У неетерифікованих жирних кислотах вміст селену за дії селеніту окремо збільшився у 2,7 рази, а за спільної дії з Cu^{2+} – у 20,4 рази, за спільної дії з Zn^{2+} – у 23,1 рази і за спільної дії Fe^{3+} – у 12,8 рази відповідно до контролю. Щодо триацилгліцеролів, то Se у їх складі за дії селеніту окремо виявилось на 38,1% більше порівняно з контролем, а за спільного впливу з Cu^{2+} – на 114%, Zn^{2+} – на 95,2% і Fe^{3+} – на 219% більше, ніж у контрольних зразках.

Також визначено особливості включення Цинку, Купруму та Феруму до складу цих класів ліпідів (табл. 2).

Таблиця 2 – Вміст металів у ліпідах різних класів клітин *Ch. Vulgaris* за їх спільної дії з селенітом натрію (10,0 мг Se (IV)/дм³), 7 діб, мг/г сухої маси ліпідів, M±m, n=5

Умови досліджу	Se (IV)+Cu ²⁺	Se (IV)+Zn ²⁺	Se (IV)+Fe ³⁺
Фосфоліпіди			
контроль	0,77±0,09	4,27±0,87	3,77±0,96
дія металу	1,20±0,11*	22,73±2,95*	5,48±0,94
Диацилгліцероли			
контроль	0,77±0,08	7,53±0,99	3,67±0,92
дія металу	1,38±0,17*	21,10±3,10*	5,91±0,34*
Триацилгліцероли			
контроль	0,83±0,07	11,15±1,16	4,88±0,48
дія металу	1,26±0,09*	15,45±1,38*	10,25±2,08
Неетерифіковані жирні кислоти			
контроль	0,85±0,09	8,48±0,42	3,86±0,33
дія металу	0,94±0,13	14,44±2,06	6,61±0,97

* – p<0,05 різниця вірогідна порівняно з контролем.

Отже, згідно отриманих результатів ступінь досліджуваних мікроелементів включення Селену, Цинку, Купруму і Феруму між зазначеними фракціями ліпідів, був наступним: *триацилгліцероли* містять Se > Fe > Zn > Cu; *диацилгліцероли* – Zn > Fe > Cu > Se; *неетерифіковані жирні кислоти* – Zn > Fe > Cu > Se; *фосфоліпіди* – Zn > Fe > Cu > Se.

Отримані результати щодо виявленого ефекту накопичення та включення досліджуваних біогенних мікроелементів до складу внутрішньоклітинних макромолекул клітин хлорели, може послужити основою для біотехнологічного отримання природніх біологічно активних комплексів, збагачених важливими фізіологічними нутрієнтами, і що є підставою для наступних досліджень біологічної активності і терапевтичної дії отриманих комплексів.