

ОДЕРЖАННЯ ГІДРОЛІЗАТІВ БІЛКУ З ВОДРОСТЕЙ РОДУ *SCENEDESMUS*

Кириченко Г.В., Левтун І.І.

КПІ ім. Ігоря Сікорського, kyrychenko.heorgii@iill.kpi.ua

Вступ. Мікрводорості є багатим джерелом білків, які можуть становити до 70% сухої ваги біомаси деяких видів. Такі їх представники як *Arthorspiramaxima*, рід *Synechococcus*, *Chlorella vulgaris*, *Dunaliella salina*, *H. pluvialis* і *Scenedesmus obliquus* показують дуже високий вміст білків і подібні енергетичні цінності в порівнянні з соєю, кукурудзою і пшеницею [1]. Щоденна продуктивність клітинної маси мікрводоростей роду *Scenedesmus*, багатої на білок, становить близько 250 т/га на рік, що в десятки разів перевищує врожайність будь-якого сільськогосподарського продукту, яка в середньому складає 10-15 т/га за даними Організації Об'єднаних Націй з питань харчування [2].

Мікрводорості також мають вищу здатність до асиміляції CO₂ (50%-60%) аніж вищі рослини (10-40%), що в кінцевому підсумку сприяє зменшенню викидів парникових газів [2]. Більше того, вирощування мікрводоростей можна здійснювати на територіях з ґрунтом, водою або кліматом, які не підходять для традиційних сільськогосподарських культур [1]. Таким чином, мікрводорості не конкурують безпосередньо з продовольчими культурами, і навіть можуть допомогти в очищенні води для сільського господарства, а також сприяти розподілу доходів у посушливих регіонах.

Однією з переваг культивування штамів мікрводоростей *Scenedesmus* є надійність і легкість культивування, що робить їх придатним для великомасштабного виробництва [3]. Серед усіх представників цього роду для використання у якості джерела білку найбільше досліджений вид *Scenedesmus obliquus*. Недавні дослідження показали, що *Scenedesmus obliquus* накопичує високу загальну кількість білка (35–58% за масою сухих мікрводоростей) при вирощуванні протягом 12–15 днів у відкритій системі [4].

Метою роботи було провести аналіз та обрати ефективний та економічно доцільний метод отримання гідролізатів білку з мікрводоростей роду *Scenedesmus*.

Матеріали та методи. Оптимізація умов культивування є однією з ключових передумов для більш широкого використання *Scenedesmus Obliquus* у якості сталого джерела білку. *S. obliquus* є мезофільним мікроорганізмом, і може рости за температур від 15 до 40 °С. Окрім цього, на ріст водоростей впливає інтенсивність світла, через свій вплив на фотосинтез, та рН середовища, коливання якого також може обмежити ріст водоростей через пригнічення метаболізму [5]. Тому є необхідним пошук раціональних умов культивування мікрводоростей.

Для цього водорості вирощували у колбах об'ємом 500 мл, що містили 400 мл середовища BG11, що складалося з NaNO₃ (1500 мг/л), K₂HPO₄·3H₂O (40 мг/л), MgSO₄·7H₂O (75 мг/л), амоній ферум цитрату (6 мг/л), CaCl₂·2H₂O (36 мг/л), Na₂CO₃ (20 мг/л), лимонної кислоти (6 мг/л), ЕДТА (1 мг/л), H₃BO₃ (2,86 мг/л), MnCl₂·4H₂O (1,81 мг/л), ZnSO₄·7H₂O (0,22 мг/л), CuSO₄·5H₂O (0,079 мг/л),

$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24}\cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (0,39 мг/л) та $\text{Co}(\text{NO}_3)_2\cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (0,049 мг/л). Початкова концентрація водоростей становила близько 0,15 г/л (сухої маси). Культивування тривало 22 дні. Масообмін проводили перемішуванням на планетарному шейкері. Освітлення здійснювали LED світильниками зі світлодіодами червоного (630 нм) та синього (465 нм) у співвідношенні 1:1 за схемою 12 годин світла, 12 годин темряви [6].

Ефективну температуру культивування визначали, проводячи експерименти за 20 ± 1 , 25 ± 1 , 30 ± 1 і 35 ± 1 °C відповідно при інтенсивності світла 28 Вт/м^2 і значенні рН середовища 8,0 [6].

Раціональну інтенсивність світла визначали проводячи експерименти за 14, 28, 32 та 46 Вт/м^2 , температуру при цьому контролювали на рівні 25 ± 1 °C, а початкове значення рН = 8,0 [6].

Ефективне значення рН встановлювали за експериментів при рН 5, 6, 7, 8, 9, 10 та 11 відповідно. Температуру підтримували на рівні 25 ± 1 °C, а рН = 8,0 [6].

Для дослідження було обрано періодичну технологію культивування як таку, що потребує менше реагентів, є технологічно простішою і дозволяє дослідити, особливості накопичення білку у мікродоростях під час росту культури. [5].

Також було розглянуто різні методи гідролізу, концентрування та очищення білку мікродоростей, та обрано ті, що мають найбільше переваг та можуть бути використані у промисловості.

Результати та обговорення. Було встановлено, що вміст білка, вуглеводів і ліпідів залишався стабільним при інтенсивності світла від 14-28 $\text{Вт}\cdot\text{м}^2$ і найбільше зростання та накопичення білку ($\sim 55 \pm 5\%$) у *Scenedesmus obliquus* було виявлено при $32 \text{ Вт}\cdot\text{м}^2$. Це можна пояснити зниженням ефективності фотосинтезу за низької та надто високої інтенсивності освітлення.

Швидкість росту *S. Obliquus* збільшилася, і клітини досягли максимальної концентрації біомаси (0,57 г/л) при 25°C. При 20°C та 35°C мікродорості мали майже однакову щільність ($\sim 0,4$ г/л). Це доводить, що інтенсивність росту мікродоростей збільшується до певного значення температури, після якого вона зменшується при будь-якому подальшому підвищенні чи пониженні температури [6].

Окрім того, вміст білків, вуглеводів та ліпідів дещо змінювався за різних температур. Так, за температур від 20°C до 35°C, вміст білків у *S. obliquus* спочатку зростає, а потім знижувався, і максимальний їх вміст ($\sim 55 \pm 5\%$) був отриманий при 25 °C. При температурі вище та нижче 25 °C вміст білків зменшувався, що пояснюється зниженням активності ферментів, що приймають участь у фотосинтезі [6].

За рН 5 мікродорості росли повільно, а швидкість росту *S. obliquus* зростала зі збільшенням значення рН до 11. Кислі умови викликають інгібування ферментів, що беруть участь у фотосинтезі, що призводить до зміни поглинання поживних речовин і, таким чином, впливає на ріст мікродоростей. Зі збільшенням початкового значення рН концентрація біомаси зростала. Максимальна концентрація біомаси становила 0,65 г/л при рН 10 [6].

Коли рН становив 5 і 6, вміст білка коливався в межах $54 \pm 5\%$. Вміст білка поступово збільшувався в експоненціальній фазі росту і зменшувався під час

стаціонарної фази в нейтральному та лужному середовищах. При рН 10 вміст білка досягав максимуму - $55,26 \pm 5\%$ [6].

Криві накопичення білку мікрowodоростями *S. obliquus* в залежності від температури, рН та інтенсивності освітлення наведено на рис. 1 (А-В).

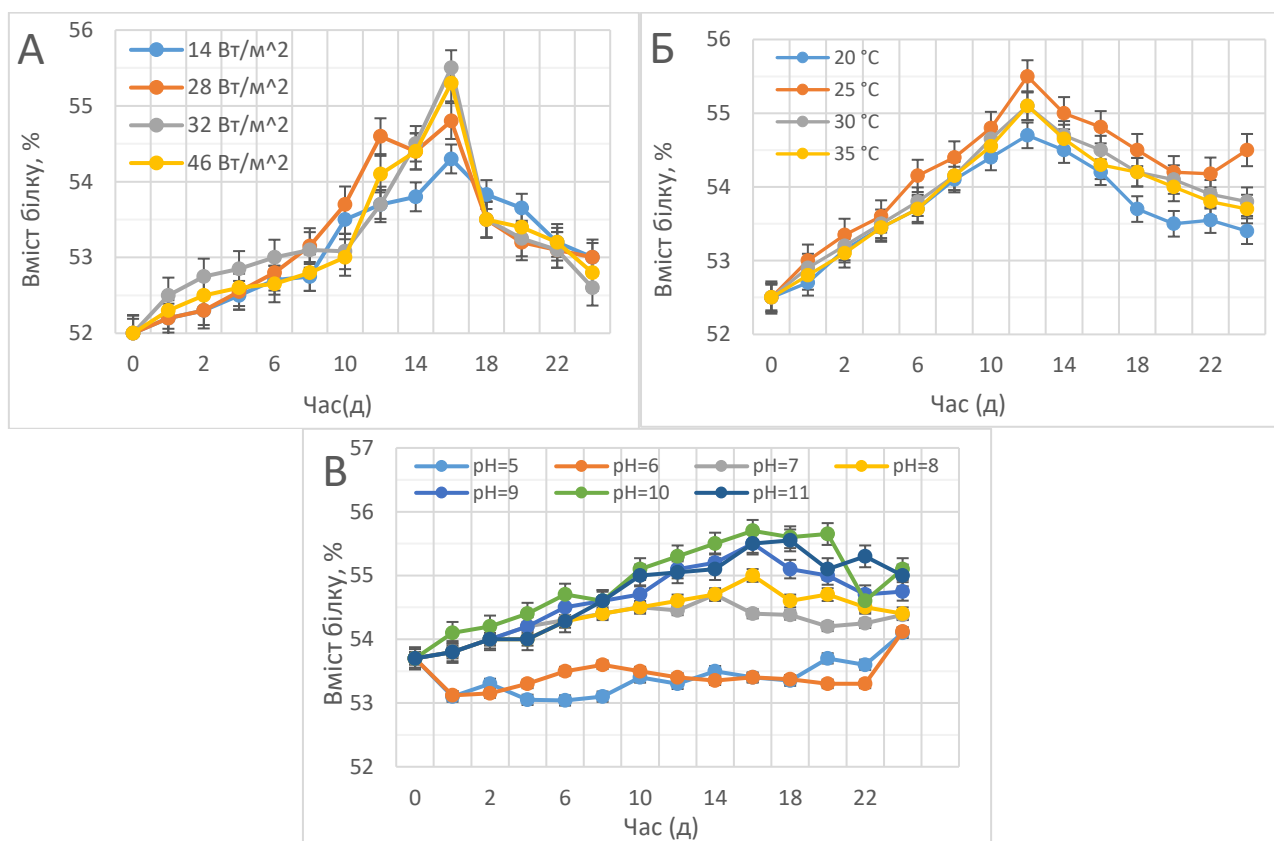


Рис. 1 – накопичення білку водоростями *Scenedesmus obliquus* в залежності від: А – інтенсивності світла; Б – температури; В – рН [6].

Для отримання білкових гідролізатів був обраний ферментативний гідроліз, адже на відміну від лужного або кислотного, він є більш селективним у розщепленні специфічних пептидних зв'язків у білках, що призводить до виробництва пептидних фракцій зі специфічними функціональними або поживними властивостями. Вихід білку за такого методу наближається до 90% від початково накопиченої кількості [7].

Як метод концентрування та очищення гідролізатів було обрано ультрафільтрацію, адже цей метод дозволяє сумістити наведені два етапи та не потребує додаткових маніпуляцій, як очищення від реагента при осадженні гідролізатів. Вихід білку на цій стадії 70% від початкової, на відміну від 40% за використання інших методів [7].

Висновки. В даній роботі було встановлено, що:

Рациональна інтенсивність світла для накопичення білку мікрowodоростями *Scenedesmus obliquus* є $32 \text{ Вт} \cdot \text{м}^2$ за якої було накопичено 55,3% білку, оскільки за нижчої інтенсивності зменшується ріст водоростей, а за більшої – зменшується накопичення білку. Освітлення при цьому варто здійснювати LED

світильниками зі світлодіодами червоного (630 нм) та синього (465 нм) у співвідношенні 1:1 за схемою 12 годин світла, 12 годин темряви

Доцільною температурою для накопичення білку мікроводоростями *S. obliquus* є 25 °C за якої було накопичено 55,1±5% білку, адже за вищих та нижчих температур знижується інтенсивність росту та накопичення білку водоростями.

Раціональне значення рН для отримання білку є рН = 10 за якого було накопичено 55,26±5% білку, адже за кислих умов знижується ефективність фотосинтезу, а за більш лужних умов зменшується кількість накопиченого білку.

Список використаної літератури:

1. Caporgno, M.P.; Mathys, A. Trends in Microalgae Incorporation into Innovative Food Products with Potential Health Benefits. *Front. Nutr.* 2018, 5, 58;

2. Becker, E. W., 2004. The nutritional value of microalgae for aquaculture. In: Richmond, A. (Ed). *Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology*, Blackwell Publishing Ltd: 380-291

3. Pavel Příbyl, Vladislav Cepák, Petr Kaštánek, Vilém Zachleder, Elevated production of carotenoids by a new isolate of *Scenedesmus* sp., *Algal Research*, Volume 11, 2015, Pages 22-27, ISSN 2211-9264, <https://doi.org/10.1016/j.algal.2015.05.020>;

4. Park, C., Kim, S., & Jin, E. (2021). Comparative analysis of the economic feasibility of open ponds and photobioreactors for large-scale microalgae cultivation. *Algal Research*, 57, 102468. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102468>;

5. Перспективи використання мікроводоростей у біотехнології / О.К. Золотарьова, Є.І. Шнюкова, О.О.Сиваш, Н.Ф. Михайленко; пфд редак. О.К. Золотарьової. – К.: Альтерпрес, 2008. – 234 С;

6. Optimization for *Scenedesmus obliquus* Cultivation: the Effects of Temperature, Light Intensity and pH on Growth and Biochemical Composition. Yonggang Zhang, Li Ren, Huaqiang Chu, Xuefei Zhou, Tianming Yao and Yalei Zhang. *Microalgae proteins: production, separation, isolation, quantification, and application in food and feed*, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61:12, 1976-2002, DOI: 10.1080/10408398.2020.1768046;

7. Matheus Lopes Amorim, Jimmy Soares, Jane Sélia dos Reis Coimbra, Mauricio de Oliveira Leite, Luiz Fernando Teixeira Albino & Marcio Arêdes Martins (2021) *Microalgae proteins: production, separation, isolation, quantification, and application in food and feed*, *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 61:12, 1976-2002, DOI: 10.1080/10408398.2020.1768046.