

ВПЛИВ КОМПЛЕКСІВ ІОНІВ ФЕРУМУ (Fe^{2+} ТА Fe^{3+}) ТА ОСВІТЛЕННЯ НА МЕТАБОЛІЗМ *CHLORELLA VULGARIS*

Ковальова С.О., Голуб Н.Б.

КПІ ім. Ігоря Сікорського, svitlayak@gmail.com

Abstract

*This study investigates the combined effects of light spectra and excess iron (Fe^{2+} , Fe^{3+}) on the accumulation of bioactive compounds in *Chlorella vulgaris*. Red-blue and white LED lighting with Fe^{2+} , Fe^{3+} supplementation significantly influenced chlorophyll and carotenoid synthesis, highlighting the importance of optimizing cultivation conditions.*

Keywords: *Chlorella vulgaris*, microalgae, light spectrum, ferrum ions, pigment production.

Вступ. *Chlorella vulgaris* є перспективним об'єктом для біотехнології завдяки здатності швидко рости та накопичувати корисні біомолекули, зокрема каротиноїди, хлорофіли, білки та ліпіди, що робить її важливим ресурсом для виробництва біоактивних сполук [1]. Одним з основних факторів, що впливають на її метаболізм, є світло, яке визначає ефективність фотосинтезу. Різні спектри освітлення впливають на синтез біомаси та пігментів мікроводоростей. Мікроводорості здатні ефективно поглинати світло переважно в синьому (близько 430–470 нм) та червоному (близько 660–680 нм) діапазонах спектра, оскільки саме ці довжини хвиль найбільш активно використовуються основними фотосинтетичними пігментами – хлорофілом а і b [2].

Метали, зокрема залізо, є важливими для активності фотосинтетичних ферментів, але їх надлишок може спричиняти токсичні ефекти, знижуючи ефективність фотосинтезу і викликаючи окислювальний стрес. Високі концентрації іонів заліза можуть інгібувати ріст водоростей і викликати утворення токсичних активних форм кисню [3]. Питання комбінованого впливу різних спектрів світла та металів, таких як залізо, на ріст і метаболізм *Chlorella vulgaris* залишаються недостатньо дослідженими.

Метою роботи є оцінка впливу спектру світла та надлишку Fe^{2+} і Fe^{3+} на накопичення біоактивних сполук у клітинах *Chlorella vulgaris*.

Матеріали та методи. Культуру *Chlorella vulgaris* взято з колекції кафедри біоенергетики, біоінформатики та екобіотехнології НТУУ "КПІ". Мікроводорості вирощували в середовищі BG-11 у трубчатих фотореакторах за температури 20 ± 2 °C. Перемішування середовища здійснювалося за допомогою барботування повітрям з періодичним додаванням CO_2 . Застосовували чотири типи освітлення: природне яскраве, приглушене, біле світлодіодне, червоно-синє (2:1). Fe^{2+} (заліза (II) бісгліцинат) та Fe^{3+} (заліза (III) цитрат) додавали у концентраціях 0, 5, 10, 20 мг/л на 2-му та 6-му тижнях культивування.

Біомасу висушували, пігменти екстрагували холодним етанолом (температура екстрагенту – 0 °C), подрібнювали біомасу гомогенізатором, фільтрували і аналізували спектрофотометрично (UV-Vis, 470, 649, 665 нм). Концентрації розраховували за стандартними формулами [4]:

хлорофіл а:

$$C_a = 13.95 \cdot A_{665} - 6.88 \cdot A_{649};$$

хлорофіл *b*:

$$C_b = 24.96 \cdot A_{649} - 7.32 \cdot A_{665};$$

хлорофіл загальний:

$$Cl_{\text{заг}} = C_a + C_b$$

каротиноїди:

$$C_{x+c} = \frac{(1000 \cdot A_{470} - 2.05 \cdot C_a - 114.8 \cdot C_b)}{245}$$

Результати та обговорення

Зміну вмісту хлорофілу *a* та хлорофілу *b* у культурі мікрроводоростей *Chlorella vulgaris* залежно від умов культивування показано на рис.1.

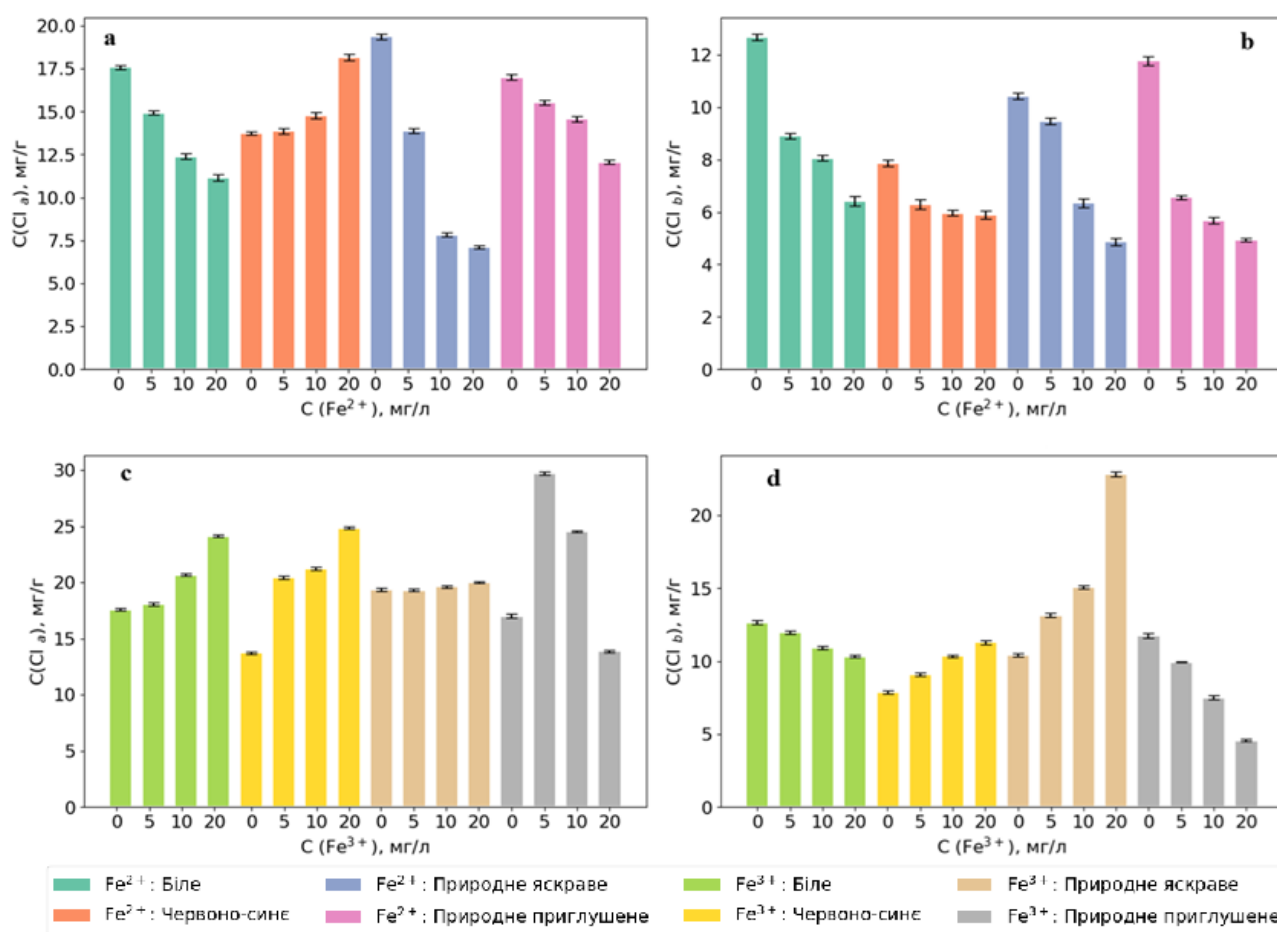


Рис 1. Вміст хлорофілу *a* (а, с) та хлорофілу *b* (b, d) у культурі *Chlorella vulgaris*, культивованої за різних умов освітлення та з надлишковим вмістом Fe²⁺ (a, b) і Fe³⁺ (c, d).

За дії Fe²⁺ за умов освітлення білим, природним яскравим та природним приглушеним світлом, крім червоно-синього спектра, спостерігалось зниження вмісту обох типів хлорофілів у клітинах. Найбільше зниження хлорофілу *a* (на 63 %) спостерігалось за концентрації 20 мг/л Fe²⁺ за природного яскравого освітлення, а хлорофілу *b* – на 36 % за білого світлодіодного освітлення порівняно з контролем. У клітинах, вирощених під червоно-синім світлом, спостерігалось збільшення кількості хлорофілу *a* зі збільшенням концентрації

металу. Хлорофіл b зменшувався за високих концентрацій Fe^{2+} , що вказує на інгібуючий ефект цього металу за високих концентрацій на синтез хлорофілів.

З підвищенням вмісту Fe^{3+} вміст хлорофілу а збільшувався за дії червоно-синього та білого світлодіодного освітлення. За червоно-синього спектру вміст хлорофілу а збільшувався на 81 % за 20 мг/л Fe^{3+} , а за білого світла – на 37 %. За природного яскравого освітлення вміст хлорофілу а залишався сталим у разі різних концентрацій Fe^{3+} , а за приглушеного освітлення знижувався на 49 % за 20 мг/л. Зростання хлорофілу b спостерігалось за 20 мг/л Fe^{3+} у разі дії природного яскравого освітлення (на 119 %), червоно-синього спектра (на 44 %). За дії приглушеного природного освітлення та білого освітлення спостерігали зниження вмісту хлорофілу b з підвищенням концентрації Fe^{3+} .

Таким чином, синтез хлорофілів залежить як від спектру світла, так і від форми та концентрації заліза.

Збільшення вмісту хлорофілу b за високих концентрацій Fe^{3+} під дією яскравого природного та червоно-синього світла пояснюється активацією ферментів, які сприяють його синтезу, а також фотосинтетичними адаптаціями, що покращують ефективність світлозбирального комплексу в хлоропластах [5].

Підвищена концентрація Fe^{3+} сприяє збільшенню вмісту загального хлорофілу. Найбільше зростання відбувалося під світлом червоно-синього спектру (на 67 %), природного яскравого освітлення (на 43 %) і білого світлодіодного освітлення (на 37 %). Водночас у разі природного приглушеного освітлення відбувалося зниження вмісту загального хлорофілу з підвищенням концентрації Fe^{3+} , зокрема за 20 мг/л значення зменшувалося на 56 % порівняно з контролем.

Синтез каротиноїдів зростає з концентрацією Fe^{2+} і Fe^{3+} , досягаючи максимуму за 20 мг/л, крім приглушеного світла, де пік спостерігався за 10 мг/л (Рис. 2).

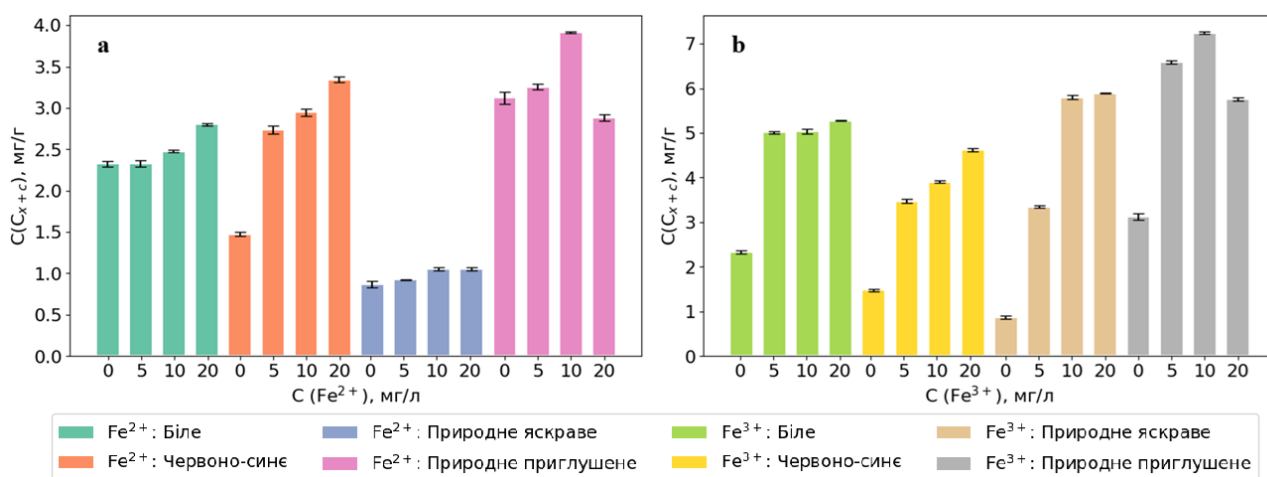


Рис. 2. Вміст каротиноїдів (C) у культурі *Chlorella vulgaris*, культивованої за різних умов освітлення та з надлишковим вмістом Fe^{2+} (a, b) і Fe^{3+} (c, d).

У разі підвищення вмісту Fe^{2+} максимальний приріст каротиноїдів спостерігався за червоно-синього освітлення, що в 2.26 рази більше за контроль,

та за білого світлодіодного освітлення – на 20 % більше. Залізо (III) цитрат за концентрації 20 мг/л забезпечувало максимальний вміст каротиноїдів, що в 2.3 – 3.2 рази більше за контроль залежно від типу освітлення. Максимальна концентрація Fe^{3+} за яскравого природного освітлення сприяє одночасному значному накопиченню хлорофілу (на 43 %) та каротиноїдів (у 3.2 рази; 5.89 ± 0.10 мг/г). Найвищий вміст каротиноїдів спостерігався у разі природного приглушеного освітлення та вмісту Fe^{3+} 10 мг/л – в 2.3 рази більше за контроль. Підвищення концентрації Fe^{3+} до 20 мг/л призводило до інгібування синтезу каротиноїдів. Оптимальні умови для накопичення каротиноїдів були досягнуті за природного приглушеного освітлення та концентрації Fe^{3+} 10 мг/л, за яких спостерігалось максимальне підвищення вмісту пігментів порівняно з контролем.

Залізо може сприяти синтезу каротиноїдів у мікроводоростей шляхом спричинення окислювального стресу, що активує біосинтетичні шляхи утворення каротиноїдів [6]. Крім того, іони заліза виступають кофакторами ферментативних реакцій, необхідних для їх синтезу, а також посилюють експресю відповідних генів і ферментативну активність [7].

Висновки. Встановлено, що Fe^{3+} за підвищення концентрації до 20 мг/л сприяє збільшенню біосинтезу загального хлорофілу на 67 % та 43 % за червоно-синього та природного яскравого освітлення, відповідно. Залізо (II) бісгліцинат пригнічує біосинтез хлорофілів у разі збільшення концентрації.

Одночасне максимальне накопичення хлорофілів (на 43 %) та каротиноїдів (у 3.2 рази; 5.89 ± 0.10 мг/г) досягалося за умов природного яскравого освітлення та 20 мг/л Fe^{3+} . Максимальне накопичення каротиноїдів (7.25 ± 0.30 мг/г) відбувалося за умов приглушеного освітлення та 10 мг/л Fe^{3+} . Поєднання освітлення і надлишкового вмісту металів у середовищі є ефективним підходом до підвищення продуктивності за пігментами мікроводоростей у біотехнології.

Список використаної літератури:

1. Je S, Yamaoka Y. Biotechnological Approaches for Biomass and Lipid Production Using Microalgae *Chlorella* and Its Future Perspectives. J Microbiol Biotechnol 2022;32:1357–72. <https://doi.org/10.4014/jmb.2209.09012>.
2. K. Caner, A. Gary, A. Anderson, K. Bulent, V. Mustafa. Biodiesel Potential of *Chlorella Kessleri* Grown under LED and Fluorescent Illumination Sources. Journal of Agricultural Machinery Science 2011;7:355–60.
3. Chini Zittelli G, Mugnai G, Milia M, Cicchi B, Silva Benavides AM, Angioni A, et al. Effects of blue, orange and white lights on growth, chlorophyll fluorescence, and phycocyanin production of *Arthrospira platensis* cultures. Algal Res 2022;61:102583. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102583>.
4. LICHTENTHALER HK, WELLBURN AR. Determinations of total carotenoids and chlorophylls *a* and *b* of leaf extracts in different solvents. Biochem Soc Trans 1983;11:591–2. <https://doi.org/10.1042/bst0110591>.
5. Nguyen TNP, Sung J. Light Spectral-Ranged Specific Metabolisms of Plant Pigments. Metabolites 2024;15:1. <https://doi.org/10.3390/metabo15010001>.
6. Guedes AC, Amaro HM, Malcata FX. Microalgae as Sources of Carotenoids. Mar Drugs 2011;9:625–44. <https://doi.org/10.3390/md9040625>.
7. Solano YJ, Everett MP, Dang KS, Abueg J, Kiser PD. Carotenoid cleavage enzymes evolved convergently to generate the visual chromophore. Nat Chem Biol 2024;20:779–88. <https://doi.org/10.1038/s41589-024-01554-z>.