

ВПЛИВ РІЗНИХ ДОВЖИН ХВИЛЬ СВІТЛА НА ВМІСТ ХЛОРОФІЛУ В *CHLORELLA VULGARIS*

Козачок Н. В., Голуб Н.Б.

КПІ ім. Ігоря Сікорського, kozachok.nazarii@iit.kpi.ua

Abstract.

In the experiment, C. vulgaris was cultivated for 49 days in 1.5 dm³ reactors (15–17 °C) with weekly CO₂ aeration under LEDs in various red, green, and blue light ratios. The red-dominant regime produced the highest total chlorophyll and a/b ratio (up to 62.8 mg/g and 0.91), while excluding green light reduced pigment levels, underscoring its stabilizing role.

Keywords: *C. vulgaris, chlorophyll, light wavelength, LED, biomass, photobiology.*

Вступ. Мікроводорості є джерелом багатьох необхідних людям речовин. Вони швидко нарощують біомасу та можуть бути модифіковані для синтезу специфічних сполук. Одним з головних первинних метаболітів рослин є хлорофіл. Цей пігмент може мати широке застосування у різних галузях людського життя.

У харчовій промисловості хлорофіл використовується як натуральний барвник зеленого кольору. Він зареєстрований Європейським агентством з безпеки харчових продуктів (ESFA) як E140, а його похідні – хлорофіліни – під номером E141. Також хлорофіл має антиоксидантні властивості, що дає змогу продуктам зберігатись довше. Оскільки це природний антиоксидант, він несе меншу шкоду споживачу [1].

Антиоксидантні властивості хлорофілу більш широко використовуються у косметології. Цей пігмент допомагає у відновленні шкіри від старіння, спричиненого впливом ультрафіолету [2]. Для внутрішнього застосування (наприклад, як внутрішній дезодорант) використовують Си-хлорофілін із встановленим допустимим добовим прийомом до 15 мг/кг маси тіла, типові дози складають 100–200 мг, а інколи – до 300 мг на добу, що затверджено відповідними нормативами. Топічні засоби на основі водорозчинних хлорофілінових похідних застосовуються для стимуляції загоєння ран, лікування хронічних виразок та інфекційних станів. Історичні клінічні дослідження підтверджують їх потенціал у прискоренні відновлення тканин і зниженні інфекційної активності.

У фотодинамічній терапії (PDT) застосовують різні похідні хлорофілів (наприклад, 10-гідрокси-пееофітин а, хлорофілін е4, Na-пееофорбід а та інші), які завдяки оптимальному поглинанню світла довгих хвиль (понад 650 нм) дають змогу ефективно лікувати як поверхневі, так і глибоко розташовані пухлини [1].

C. vulgaris є одним із найбільш поширених видів водоростей, має відносно високу продуктивність біомаси, невибаглива до умов культивування, тому її було вибрано як дослідний об'єкт.

На ріст *C. vulgaris* впливають багато параметрів, такі як: склад поживного середовища, рН, йонна сила розчину, режим барботування, кількість вуглекислого газу та інші. Одним з найбільш важливих параметрів є освітлення. Оскільки хлорофіл а має максимуми поглинання близько 430 нм (синя зона) та

662 нм (червона зона), а хлорофіл b – близько 453 нм (синя зона) та 642 нм (червона зона), зміна довжини хвилі освітлення може виступати стресовим фактором, що стимулює біосинтез цих пігментів у клітині.

Мета роботи: визначити вплив світла різної довжини хвилі на вміст хлорофілів a і b у клітинах *C. vulgaris*.

Матеріали та методи. Нарощення біомаси *C. vulgaris* здійснювали в ейрліфтних реакторах об'ємом 1,5 дм³ на середовищі Громова протягом 49 діб за температури 15-17 °С. Культуру раз на тиждень продували CO₂ зі швидкістю 600 см³/хв протягом 1 хвилини.

Джерелом світла слугували LED-стрічки, що створювали світло в червоному (620–625 нм), синьому (460–465 нм) та зеленому (569–571 нм) спектрах. Змінним параметром було співвідношення кількості світла, що генерується діодами. Використовували 6 реакторів, по 2 реактори на кожен режим освітлення у трьох повторностях (n=3). Співвідношення робочої потужності діодів (червоний:зелений:синій) створювало наступні режими освітлення: біле світло (1:1:1), надлишок червоного (2:1:1) та відсутність зеленого (2:0:1). Освітленість реакторів була 8,3 Вт/м² для 1:1:1 та 2:1:1 і 5 Вт/м² для 2:0:1. Фотоперіод становив 4 години світла та 4 години темряви.

Визначення вмісту біомаси проводили гравіметрично після висушування за 50°C у сушильній шафі. Визначення вмісту хлорофілу проводили за методикою спектрофотометрії з використанням 96% етанолу як розчинника [3].

Статистичну обробку даних проводили з використанням одновибіркового t-критерію Стьюдента за рівнем значущості $\alpha = 0,05$. Результати наведено як середнє значення $\pm$ стандартна помилка середнього (SE).

Результати і обговорення. Отримані результати вмісту біомаси в культуральній рідині та пігментів в сухій біомасі наведено у таблиці 1. Результати вказують на наявність впливу довжини хвилі на ріст та пігментний склад *C. vulgaris*.

Таблиця 1. Вміст біомаси та пігментів *C. vulgaris* залежно від довжини хвилі освітлення.

Співвідношення робочої потужності діодів червоного (R), зеленого (G) та синього (B) кольору.	Вміст біомаси, мг/см ³	Вміст пігментів, мг/г сухої біомаси				Співвідношення a/b.
		Хлорофіл a	Хлорофіл b	Загальний хлорофіл	Каротиноїди	
R1:G1:B1	0,940 $\pm$ 0,043	16,950 $\pm$ 1,014	24,900 $\pm$ 0,872	41,850 $\pm$ 1,442	1,625 $\pm$ 0,063	0,685 $\pm$ 0,039
R2:G1:B1	0,930 $\pm$ 0,054	26,600 $\pm$ 1,390	29,350 $\pm$ 1,219	55,950 $\pm$ 2,593	0,275 $\pm$ 0,015	0,905 $\pm$ 0,041
R2:G0:B1	0,725 $\pm$ 0,036	18,450 $\pm$ 0,850	26,100 $\pm$ 1,005	44,550 $\pm$ 2,056	0,920 $\pm$ 0,038	0,700 $\pm$ 0,034

Відносно інших схожих досліджень можна відмітити дисбаланс вмісту хлорофілу a і b. Він зазвичай має співвідношення a/b = 3-6 [4], але у зразку з білим світлом це співвідношення є 0,685 $\pm$ 0,039.

У білих LED-лампах високий вміст синього ($\approx 450\text{--}470$ нм) та червоного ($\approx 650\text{--}680$ нм) діапазонів одночасно активує криптохроми/фототропіни й фітохромоподібні рецептори. Сині фотони через криптохром-залежний каскад посилюють транскрипцію генів LHC-II та PSI/PSII, що приводить до швидкого нарощення хлорофілу b та збільшення загальної світлозбиральної антени, тоді як червоне світло, стимулюючи поділ, розріджує пігмент на клітину. У сумі це знижує співвідношення a/b та пояснює аномально високий рівень хлорофілу b у зразках, освітлених білим світлом [5-6].

В контексті приросту біомаси, наймеш ефективною виявилась система, в якій не було зеленого світла, а використовувались тільки довжини хвиль максимумів поглинання хлорофілу. Як можна побачити з отриманих даних, це також зменшило вміст хлорофілу a в клітинах, який є відповідальний саме за фотосинтез у звичайних умовах, тоді як хлорофіл b є показником стресу клітини та синтезується більш активно в умовах нестачі освітлення. Також хлорофіл b має пік, що є ближчим до максимуму випромінювання діода 460 нм, а хлорофіл a в цьому діапазоні майже не поглинає світло [4].

В досліді, де було більше червоного світла і є зелені діоди, було більше співвідношення a/b $0,905 \pm 0,041$, та найнижчий вміст каротиноїдів – від 0,26 до 0,29 мг/г. Також цей варіант показує найбільш високі показники вмісту хлорофілу від 49,1 до 62,8 мг/г. Це може свідчити про адаптацію фотосинтетичного апарату до більш сприятливих показників світла.

Висновки. Найбільший загальний вміст хлорофілів ($55,950 \pm 2,593$ мг/г сухої біомаси) було зафіксовано у варіанті з наявністю зелених діодів. Відсутність зеленого світла призвела до зниження загального вмісту хлорофілів, що підтверджує стабілізуючу роль зеленого спектра у життєдіяльності *C. vulgaris* та накопиченні хлорофілу.

Список використаної літератури

1. Solymosi, K., & Mysliwa-Kurdiel, B. (2017). Chlorophylls and their Derivatives Used in Food Industry and Medicine. *Mini reviews in medicinal chemistry*, 17(13), 1194–1222. <https://doi.org/10.2174/1389557516666161004161411>
2. Lee, H., Park, H.-Y., & Jeong, T.-S. (2021). Pheophorbide a Derivatives Exert Antiwrinkle Effects on UVB-Induced Skin Aging in Human Fibroblasts. *Life*, 11(2), 147. <https://doi.org/10.3390/life11020147>
3. Hu, X., Gu, T., Khan, I., Zada, A., & Jia, T. (2021). Research Progress in the Interconversion, Turnover and Degradation of Chlorophyll. *Cells*, 10(11), 3134. <https://doi.org/10.3390/cells10113134>
4. Schulze, P. S., Barreira, L. A., Pereira, H. G., Perales, J. A., & Varela, J. C. (2014). Light emitting diodes (LEDs) applied to microalgal production. *Trends in biotechnology*, 32(8), 422–430. <https://doi.org/10.1016/j.tibtech.2014.06.001>
5. Zhu, T., Guan, G., Huang, L., Wen, L., Li, L., & Ren, M. (2024). Transcriptomic and Metabolomic Analysis Reveal the Effects of Light Quality on the Growth and Lipid Biosynthesis in *Chlorella pyrenoidosa*. *Biomolecules*, 14(9), 1144. <https://doi.org/10.3390/biom14091144>
6. Baidya, Arpan & Akter, Taslima & Islam, Md & Shah, A. K. M. Azad & Hossain, Md & Salam, Mohammad & Paul, Sulav Indra. (2021). Effect of different wavelengths of LED light on the growth, Chlorophyll, β -carotene content and proximate composition of *Chlorella ellipsoidea*. *Heliyon*. 7. e08525. [10.1016/j.heliyon.2021.e08525](https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2021.e08525)