

**ПЕРСПЕКТИВЫ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ  
НЕКОТОРЫХ КООРДИНАЦИОННЫХ СОЕДИНЕНИЙ Mn(II)  
ДЛЯ ПОЛУЧЕНИЯ БИОМАССЫ ЦИАНОБАКТЕРИИ *SPIRULINA PLATENSIS*,  
ОБОГАЩЕННОЙ ФИКОБИЛИПРОТЕИНАМИ**

**Валериу РУДИК\*, Аурелиан ГУЛЯ, Валентина БУЛЬМАГА\*, Надежда ЕФРЕМОВА\*,  
Лилия ПОПОВСКИ**

\*НИЛ «Фикобиотехнология»

Кафедра неорганической химии и физики

A fost determinată influența unor compuși coordinativi ai Mn(II) asupra conținutului de ficobiliproteine în biomasa cianobacteriei *Spirulina platensis*. A fost stabilită majorarea conținutului de ficobiliproteine în prezența unor compuși coordinativi ai Mn(II) care conțin în calitate de liganzi acizi dicarboxylici și imidazol.

The influence of some coordinative compounds of Mn(II) on the content of phycobiliproteins in cyanobacteria *Spirulina platensis* biomass have been determined. The increasing of phycobiliprotein contents in the presence of some coordinative compounds of Mn(II) that contain as ligands dicarboxylic acids and imidazole has been established.

### **Введение**

Ввиду роста числа заболеваний и различных нарушений в организме человека, вызванных влиянием окислительного стресса, возрос интерес исследователей к натуральным антиоксидантам – биологически активным соединениям, широко распространенным в природе. Спектр биологического действия антиоксидантов весьма разнообразен и обусловлен, в основном, их защитными функциями, выражающимися в способности нейтрализовывать негативное действие свободных радикалов [1]. Известно, что натуральные антиоксиданты, потребляемые в качестве пищевых биодобавок или в составе других препаратов, способствуют снижению риска развития многих хронических заболеваний, а также предупреждают развитие онкозаболеваний [2].

Немаловажным фактом является и то, что антиоксиданты, полученные из натуральных источников, являются более эффективными по сравнению с искусственно синтезированными [3]. Антиоксидантная активность, обнаруженная у многих видов цианобактерий и микроводорослей, объясняется наличием таких биоактивных веществ, как каротиноиды, полисахариды, ненасыщенные и полиненасыщенные жирные кислоты, ферменты с антиоксидантными свойствами (супероксиддисмутаза, каталаза, глутатионпероксидаза и т.д.), витамины, полифенолы и др. [4;5].

Помимо вышеперечисленных биоактивных веществ микроводорослей и цианобактерий с антиоксидантными свойствами, важная функциональная роль в обеспечении процессов нейтрализации негативного воздействия свободных радикалов принадлежит водорастворимым пигментам белковой природы – фикобилипротеинам, одним из источников которых является цианобактерия *Spirulina platensis*. Относящийся к группе фикобилипротеинов пигмент фикоцианин в последнее время привлекает внимание исследователей благодаря своим антиоксидантным свойствам [6;7]. Установлено, что фикоцианин укрепляет иммунную систему и повышает лимфатическую активность организма, обладает низкой токсичностью, что обуславливает большую перспективность его использования в лечении и предотвращении многих заболеваний [8;9].

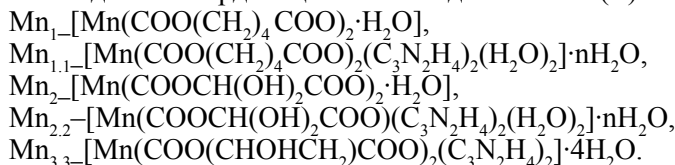
Исследования, проведенные сотрудниками НИЛ «Фикобиотехнология», выявили возможность использования некоторых металлокомплексов Fe(III), Mn(II), Zn(II) в качестве стимуляторов направленного синтеза другого биоактивного соединения спирулины – фермента супероксиддисмутазы (SOD) [10;11]. Учитывая общую белковую природу фикоцианина и SOD, а также тот факт, что марганец активно участвует в процессах фотосинтеза и играет важную роль в окислительно-восстановительных процессах, протекающих в клетке, представляло определённый интерес изучение влияния координационных соединений Mn(II) на накопление в биомассе спирулины водорастворимых пигментов с антиоксидантными свойствами.

Целью исследования являлось выяснение влияния некоторых координационных соединений Mn(II) на содержание фикобилипротеинов в биомассе цианобактерии *Spirulina platensis*.

### **Материалы и методы**

Объектом исследования служила культура цианобактерии *Spirulina platensis* CNM-CB-02, хранящаяся в Национальной коллекции микроорганизмов Института микробиологии и биотехнологии АН Молдовы. Для её культивирования использовалась питательная среда SP-1 с определенным соотношением макро- и микроэлементов для нормального роста и развития культуры [12].

Культивирование проводилось в колбах Эрленмейера с объёмом суспензии спирулины в питательной среде 100 мл, в течение 144 часов при температуре 30°C, интенсивность освещения 2000-3000 люкс на протяжении первых 48 часов культивирования и 3000-4000 люкс в последующие дни. Для стимуляции процессов накопления в биомассе цианобактерии *Spirulina platensis* фикобилипротеинов и биоактивных веществ с антиоксидантными свойствами, к суспензии спирулины на третий день культивирования добавляли одно из координационных соединений Mn(II) в концентрациях 10, 20, 30, 40, 50 мг/л:



Координационные соединения Mn(II) содержали в качестве лиганда адипиновую кислоту (Mn<sub>1</sub>), адипиновую кислоту и имидазол (Mn<sub>1.1</sub>), винную кислоту (Mn<sub>2</sub>), винную кислоту и имидазол (Mn<sub>2.2</sub>) и яблочную кислоту и имидазол (Mn<sub>3.3</sub>).

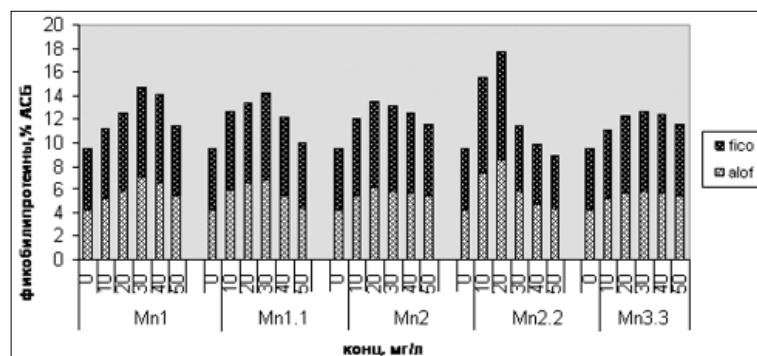
Содержание фикобилипротеинов в биомассе спирулины определялось согласно спектрофотометрическому методу, разработанному Bousiba и Richmond [13], в модификации [5].

### Результаты и их обсуждение

В нашем исследовании в качестве стимуляторов процессов накопления пигментов фикобилипротеинов в биомассе спирулины использовались комплексные соединения марганца. Для реализации этой цели был проведен скрининг пяти комплексных соединений Mn(II) с целью выявления комплекса, максимально увеличивающего содержание данных пигментов в биомассе спирулины.

На рисунке 1 представлен сравнительный анализ изменения содержания фикобилипротеинов в биомассе спирулины, культивируемой в присутствии пяти комплексных соединений Mn(II), содержащих в качестве лигандов двукислотные кислоты и имидазол в различных концентрациях.

Рис. 1. Сравнительный анализ влияния некоторых комплексных соединений Mn(II) на содержание фикобилипротеинов в биомассе цианобактерии *Spirulina platensis*.



Отметим, добавление этих соединений на третий день культивирования спирулины оказало положительное влияние на содержание фикобилипротеинов в её биомассе. Заметно, что с ростом концентрации комплексных соединений в пределах 10-30 мг/л увеличивается и содержание фикобилипротеинов. Комплексные соединения марганца, содержащие в качестве лигандов адипиновую кислоту (Mn<sub>1</sub>) и адипиновую кислоту и имидазол (Mn<sub>1.1</sub>) в оптимальной концентрации 30 мг/л, способствуют увеличению процессов накопления фикобилипротеинов в биомассе цианобактерии *Spirulina platensis* соответственно в 1,54-1,48 раза по сравнению с контролем. Комплексное соединение марганца, содержащее в качестве лигандов яблочную кислоту и имидазол, меньше повлияло на синтез фикобилипротеинов по сравнению с остальными используемыми комплексными соединениями марганца, способствуя увеличению их содержания в биомассе спирулины в 1,3 раза по сравнению с контролем.

Максимальный эффект увеличения накопления фикобилипротеинов в биомассе спирулины для всех испытуемых соединений Mn(II) был достигнут при добавлении в культивируемую среду соединения Mn<sub>2.2</sub> - [Mn(COOCH(OH)<sub>2</sub>COO)<sub>2</sub>·H<sub>2</sub>O], для которого оптимальной явилась концентрация 20 мг/л, что привело к увеличению содержания фикобилипротеинов в 1,84 раза по сравнению с контролем.

Стимулирующий эффект, оказываемый координационными соединениями марганца на содержание фикобилипротеинов в биомассе цианобактерии *Spirulina platensis*, можно объяснить включением марганца в комплекс ФС II и участием в реакции фотоокисления воды [14;15]. Марганец участвует также в процессах биосинтеза тетрапирольных пигментов путем активации некоторых энзимов [16]. Кроме того, данный эффект может объясняться и природой лигандов данного комплексного соединения, так как соединение Mn<sub>2.2</sub> в качестве лигандов содержало винную кислоту и имидазол. Известно, что винная

кислота способна окислять мембранные липиды, вызывая т.о. усиление окислительного стресса. Содержание фикобилипротеинов в биомассе спирулины возрастает, возможно, вследствие окислительного стресса, вызванного активизацией процессов образования свободных радикалов [17].

### Выводы

1. Исследование влияния некоторых комплексных соединений марганца на содержание фикобилипротеинов в биомассе цианобактерии *Spirulina platensis* показало, что стимулирующий эффект данных соединений зависит как от концентрации, так и от природы металла и лигандов. Комплекс  $Mn_{2,2}$ , содержащий в качестве лигандов винную кислоту и имидазол, способствует наибольшему увеличению содержания фикобилипротеинов в биомассе спирулины – в 1,84 раза по сравнению с контролем.

2. Изученные комплексные соединения  $Mn(II)$  могут использоваться в качестве стимуляторов синтеза фикобилипротеинов в биомассе спирулины.

3. Биомасса цианобактерии *Spirulina platensis* с повышенным содержанием фикобилипротеинов может быть рекомендована для получения антиоксидантных препаратов с дальнейшим применением их в области медицины и косметологии.

### Литература:

- Ames B.N., Shigenaga M.K. and Hagen T.M.. Oxidants, antioxidants and degenerative diseases of aging// Proc. Nat. Sci. -1993. - Vol. 90. -P.7915-7922.
- Lawrence J.M. Oxyradicals and DNA damage // Carcinogenesis. - 2000. - No 21. - P.361–370.
- Li A. H., Cheng K., Wong C., King-Wai F., Feng C. and Yue J.Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae // Food Chem. - 2007. - No 102.-P.771–776.
- Duan X.J., Zhang W.W., Li X.M. et al. Evaluation of antioxidant property of extract and fractions obtained from a red alga, *Polysiphonia urceolata* // Food Chemistry. - 2006. - No 95. -P.37-43.
- Rudic V. Aspecte noi ale biotehnologiei moderne. - Chișinău: Știința, 1993, p.140.
- Bhat V.B., Madyastha K.M. C-phycoyanin: a potent peroxy radical scavenger in vivo and in vitro// Biochemical and Biophysical Research Communications. - 2000. - No 275 (1). - P.20–25.
- Romay R. Gonzalez., Ledon N., Ramirez D., Rimbau V. Phycocyanin: a Biliprotein with Antioxidant, Anti-Inflammatory and Neuroprotective Effects // Bentham Science Publishers, 2003, p.207-215.
- Hirata Takashi, Tanaka Mikiya, Ooike Masaki, Tsunomura Teppei, Sakaguchi Morihiko. Antioxidant activities of phycocyanobilin prepared from *Spirulina platensis* // Journal of Applied Phycology . - 2000. - No 12(3-5). - P.435-439.
- Blinkova L., Gorobets O., Baturo A. Biological activity of *Spirulina* // J. Mikrobiol., Epidemiol., Immunobiol. - 2001. - No 2. - P.114-118.
- Bulimaga V., Rudic V., Zosim L., Chiriac T., Turtă C., Șova S., Prodius D., Melnic S., Mereacre V. Procedeu de obținere a biomasei de *Spirulina platensis* / Brevet de invenție 3129 MD. - BOPI. - 2006. -Nr.8. - P.35.
- Bulimaga V., Rudic V., Zosim L., Chiriac T., Turtă C., Prodius Denis, Șova S., Mereacre V. Procedeu de obținere a biomasei de *Spirulina platensis* / Brevet de invenție 3128 MD. - BOPI. - 2006. -Nr.8. - P.34.
- Rudic V., GudumacV., Bulimaga V., Dencicov L., Ghelbet V., Chiriac T. Metode de investigații în ficobiotehnologie. - Chișinău, 2002. - 61 p.
- Boussiba S., Richmond A. C-phycoyanin of the blue-green algae *Spirulina platensis* // Arch. Microbiol. - 1998. -Vol.125. - P.143-147.
- Lydakis-Simantiris N., Hutchison R.S. and other. Manganese stabilizing protein of photosystem II is a thermostable, natively unfolded polypeptide// Biochemistry. - 1999. - No 38. - P.401-414.
- Barber James. Towards a full understanding of water splitting in photosynthesis // International journal of photoenergy. - 2006. - Vol. 06. -P.43-51.
- Jinghua Zhang, Toshiko Nagahama, Hiroki Ohwaki, Yasuhiro Ishibashi, Yuji Fujita and Sunao Yamazaki. Analytical Approach to the Discoloration of Edible Laver “Nori”in the Ariake Sea // Analytical Sciences. -2004. -Vol. 20. - P.37-43.
- Hirata Takashi, Tanaka Mikiya, Ooike Masaki, Tsunomura Teppei, Sakaguchi Morihiko. Antioxidant activities of phycocyanobilin prepared from *Spirulina platensis* // Journal of Applied Phycology . - 2000. - No 12(3-5). - P. 435-439.

Prezentat la 13.06.2008