

Антарктическите дрожди: природен ресурс за биологично активни вещества

Костанца Павлова

Клетки на
антарктическия
шам *Sporobolomyces*
salmonicolor AL1

Приспособяването им към студа на молекулно ниво включва различни биохимични пътища, свързани с ензимна кинетика, синтез на криопротекторни молекули, механизми, включващи регулация на течното състояние на мембраната чрез съотношение между наситени и ненаситени мастни киселини, чрез повишаване на концентрацията на соли, понижа-

Антарктида е континент с целогодишни ниски температури, силни ветрове, светли и тъмни периоди, високо ултравиолетово облъчване, дефицит на хранителни субстрати, недостиг на течаща вода за организмите и въпреки екстремните климатични условия за живот съществува голямо разнообразие на живи форми, характеризиращи се със специфични механизми за адаптация.

ващи температурата на замръзване на цитоплазмата, натрупване на липиди и въглехидрати и потискане биосинтеза на протеини и нуклеинови киселини. В последните десетилетия интересът на изследователите към Антарктида не-прекъснато нараства и в неговото изучаване се включват различни специалисти от много страни. България също е една от



Леофилизирана биомаса
на щам *Sp. salmonicolor* AL₁

страните, която има собствена научна база на антарктическият о-в Ливингстън и вече над 15 години извършва различни изследвания. Една от областите на научен интерес както от български, така и от чуждестранни учени е изучаване на биоразнообразието на острова и търсене на микроорганизми с неизследван потенциал за синтез на природни метаболити с полезни свойства за приложение в различни отрасли. Сред научните задачи пред българските изследователи на Антарктида и по-специално на о-в Ливингстън е и проучването на антарктически почви, мъхове, лишци, треви, пера от пингвини, животински екскременти, утайки и др. с цел изолиране на дрожди, бактерии, плесени и актиномицети, представляващи теоретичен и практически интерес за човека. Нашата Лаборатория по приложни биотехнологии към Института по микробиология – БАН също участва в изучаването на микробиологичното биоразнообразие на о-в Ливингстън и по-специално на продуктивните възможности на дрожди и бактерии, изолирани от антарктически проби.

Разнообразни дрожди, бактерии, плесени и актиномицети са изолираните, идентифицирани и изследвани досега микроорганизми

от Антарктида. Дрождите, обект на нашите изследвания, са едноклетъчни микроорганизми и се отнасят към еукариотните. Най-често се срещат клетки с ширина 2 – 6 μm и дължина 4 – 10 μm . Клетъчната стена е сложна по строеж и състав, изградена основно от полизахаридите глюкан, манан и хитин, които я правят здрава и трудно разградима. Други компоненти на стената са белтъци, липиди и неорганични фосфати. Следва цитоплазматична мембрана, а вътрешността на клетката е изпълнена с цитоплазма, в която протича по-голямата част от жизнените процеси. Тя съдържа вакуоли с резервни хранителни вещества волутин, минерални елементи, органични съединения с ниска и средна молекулна маса и разтворими макромолекули (ензими, белтъци, белтъчни фактори, гликоген). В протоплазмата се осъществяват биосинтез и модификация на белтъци. Изградена е от белтъци, липиди, въглехидрати и соли. При младите клетки тя е хомогенна, еднородна и дребнозърнеста, а с напредване на възрастта в нея се появяват различни включения: рибозоми, синтезиращи белтъчни вещества; мастни капки; митохондрии, които участват в процесите на обмяна на веществата, в растежа и пъпкуването на клетките и спорообра-



Доц. д-р Костанца Павлова е завършила Университета по хранителни технологии, специалност „Технология на витамини, антибиотици и дрожди“. Работи в Лабораторията по приложни биотехнологии, Пловдив, към Института по микробиология – БАН. Обект на нейните изследвания са психрофилни (антарктически) и мезофилни дрожди – изолиране, идентифициране, изучаване на техния потенциал за синтез на биологично активни и полезни вещества.

зуването. В тях са съсредоточени ензими, участващи в преноса на електрони и в окислителното фосфорилиране при еукариотите. Дрождите притежават ясно обособено ядро, изпълнено с нуклеоплазма, която има зърнеста структура и съдържа хромозоми. За развитието си дрождите изискват кислород (аеробни условия), но някои живеят в безкислородна среда (анаеробни условия). Те се размножават вегетативно (безполово деление) и полово. Морфологичната и физиологична характеристика се отнася както за мезофилните дрожди, които се развиват при температура 28 – 30 °C, така и за психрофилните (студоустойчиви), които успешно са колонизирали всички студени територии от дълбочините на езера, морета и океани до планинските и полярни райони и са с оптимална температура на растеж 15 °C, максимална под 20 °C и минимална 0 °C и –3 до –7 °C в зависимост от вида им. През

последните години се публикуват материали и изказват мнения, че има повишаване на тяхната температура на жизнеспособност и психрофилността се дифинира като невъзможност за растеж над 25 °C. Търсенето на нови, недостатъчно изследвани микроорганизми като продуценти за разработване на биотехнологии с цел получаване на природни вещества като ензими, полизахариди, каротеноиди, липиди, белтък и др. ни насочиха към изследване на материали от о-в Ливингстън, предоставяни от членове на ежегодните български научни експедиции. Почвени, растителни и животински проби използвахме като източници за изолиране, идентифициране и изучаване на таксономията, биохимичните характеристики и биологичните активности на студоустойчивите дрожди. Дрождите, обитаващи легения континент, принадлежат към повече от 15 различни рода, между които най-често срещани и проучени са *Cryptococcus*, *Sporobolomyces*, *Debaromyces* и др. В резултат на изследователската ни работа от антарктическите проби са селектирани дрожди от родовете *Cryptococcus*, *Debaromyces*, *Leucosporidium*, *Rhodotorula*, *Sporobolomyces* и е създадена колекция, която се обогатява с нови видове.

Дрождите синтезират полезни вещества по биотехнологичен път при подходяща хранителна среда и условия на култивиране. Хранителните среди за дрожди съдържат като въглероден източник захароза, глюкоза, фруктоза, меласа, захарни разтвори от преработка на селскостопанска продукция и др., органичен азот под формата на дрождев екстракт и неорганичен азот като амониеви и нитратни соли, а също фосфор, калий, сяра, магнезий, желязо, мед, манган, цинк и др. Подходяща температура, аерация и разбъркване са основните условия за култивиране на микроорганизмите в колби при лабораторни технологии и в биореактори при мащабиране на процеса. Чистотата на посевната култура и стерилността са факторите за успешно получаване на процеса.

Ензимите са най-голямата група изследвани биологично активни вещества от студоустойчивите дрожди. Дрожди от род *Cryptococcus* са продуценти на ензимите про-



Синтез на глюкоманан и натрупване на биомаса в биореактор

теаза, ксиланаза, липази, α - и β -глюкозидази, пектолитични ензими, фитаза и др. В лабораторията ни са селектирани дрожди от вида *Cryptococcus laurentii*, продуциращи ензимите β -глюкозидаза и фитаза, а от щам *Sporobolomyces roseus* протеаза.

Микробните полизахариди са перспективни извънклетъчни съединения, които се характеризират с интересни и полезни свойства и намират приложение в хранителната, химическата и козметичната промишленост, в медицината, фармацевтиката, селското стопанство, петролната промишленост и др. Те се използват като емулгатори, стабилизатори, свързващи и желиращи агенти, имуностимулатори, антитуморни и антиоксидантни лекарствени средства. Структурата, количеството и свойствата на микробните полизахариди зависят от продуцента, състава на хранителната

средата и условията на култивиране. Полизахаридите – глюкан, манан, глюкоманан, галактоманан и фосфоманан, са синтезирани от дрожди (мезофилни), които се развиват при температура от 28 – 30 °C. За първи път в България колектив от Лабораторията по приложни биотехнологии изследва антарктически дрожди за синтез на нови биополимери с индустриална значимост. Активният продуцент на екзополизахарида глюкоманан е антарктическият дрождев щам *Sporobolomyces salmonicolor* AL₁, който се развива и го синтезира на хранителна среда със захароза, амониев сулфат, дрождев екстракт и соли в биореактор при достъп на кислород, разбъркване и адаптирана за щам температура 22 °C. След завършване на ферментацията биомасата се отделя от културалната течност чрез центрофугиране, супернатантът се

утаява с етилов алкохол и се получава биополимер, който престоява 24 часа при ниска температура, центрофузира се, промива и суши чрез лиофилизация. Полизахаридът е изграден от глюкоза, маноза и фукоза (глюкоманан), разтваря се в топла и студена вода, термоустойчив е до 280 °C, образува вискозни разтвори. Анализът на инфрачервените спектри на грождевия полизахарид

Тъй като Антарктида е континент, подложен на силно ултравиолетово облъчване, обитаващите го антарктически грожди реагират на радиацията чрез изграждане на защита, синтезирайки липоразтворими вещества. От биомасата на червения грождеви щам *Sp. salmonicolor* AL₁ са екстрахирани и идентифицирани биологично активните вещества β -каротен, коензим Q10, ергостерол,



*Глюкоманан, получен от щам *Sp. salmonicolor* AL₁*



Козметичен крем с получените вещества

доказва еднакви химични групи и структури с природните полимери. Глюкомананът има силно изразена емулгираща способност, показвайки 100 % стабилност на кремообразни състави, което позволява използването му в козметични продукти. Изискванията на съвременната козметика е заместване на синтетичните вещества, които масово се използват, с природни продукти, тъй като някои от известните синтетични съставки не водят до положителен козметичен ефект, получават се нежелани странични реакции (алергии, обриви, пигментация) на кожата. Друг проблем е стабилността на емулсиите, получени със синтетични емулгатори, която невинаги е достатъчно висока.

торулародин, торулен, липиди, протеини и др. Експериментирани са дневен и нощен крем, съдържащи полизахарида като емулгатор и биомасата, богата на метаболити с антиоксидантна активност, в полупроизводствени условия за първи път. Клиничното тестване на двата продукта върху пациенти показва съвместимост с кожата и отсъствие на оплаквания. Активните вещества в биомасата увеличават регенерацията на външните слоеве на кожата и подобряват еластичността ѝ. Тези вещества като добри антиоксиданти участват в неутрализирането на свободните радикали, а допълнително ергостеролът, превръщайки се под действие на слънчевата светлина във витамин D, изпълнява защитна роля срещу кожни заболявания.

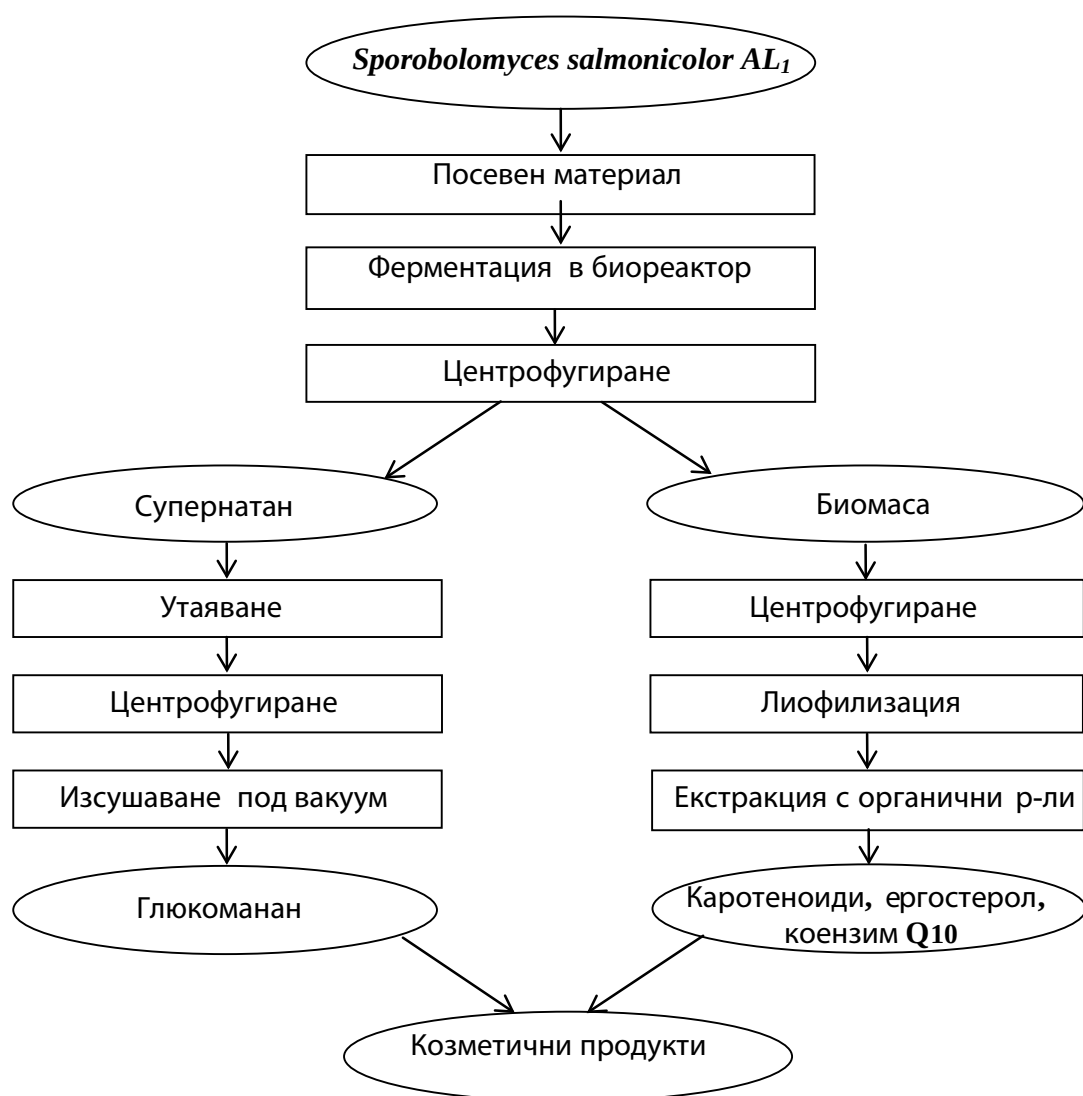


Схема за получаване и приложение на полизахарида и биомасата в козметични продукти

Приложената схема разкрива практическата насоченост на използване на антарктическите дрожди като биоресурс и възможностите на биотехнологиите за получаване на природни вещества, полезни за козметиката, като емулгатори и фотопротективни агенти, намаляващи вредния ефект на слънчевите лъчи, подобряващи еластичността на кожата и преодоляване на преждевременното ѝ стареене.

Получените от нас екзополисахарид и метаболити с антиоксидантна и фотопротективна активност и ензими с про-

дуктанти антарктически дрожди са само част от продуктивните им възможности. Тези дрожди са ценен биоресурс за разработване на бъдещи технологии за получаване на белтък и липиди с висока хранителна стойност; на нови хидролитични ензими, действащи при ниски температури като дезинфекционни средства и такива, пречистващи околната среда от различни замърсявания; ензими за екстракция и избистряне на плодови сокове; синтез на органични киселини и получаване на чисти биопроductи за медицината. ■