

ПОЛУЧЕНИЕ КАПСАИЦИНА IN VITRO: МЕТОДЫ ОПТИМИЗАЦИИ

Дегтярев Егор Петрович, студент факультета химической технологии и биотехнологии, E-mail: e.p.degtyarev@list.ru

ФГАОУ ВО «Московский политехнический университет»

Аннотация: В данной статье рассматриваются методы, направленные на увеличение выхода капсаицина из клеточных культур перца острого.

Ключевые слова: перец острый, *Capsicum spp.*, клеточные культуры, капсаицин, увеличение выхода вторичных метаболитов.

Введение. Перец острый стручковый – одна из самых распространённых пищевых добавок в мире из-за своего уникального аромата, цвета и остроты. Жгущее ощущение, вызываемое им, обусловлено наличием веществ группы алкалоидов – капсаициноидов, синтезируемых в его плодах. Капсаицин нашел широкое применение в медицине и в фармацевтической промышленности [1]. С повышением спроса на него, появилась потребность в биотехнологическом способе его получения. Однако уровень капсаициноидов, накапливающихся в клеточной культуре, далёк от уровня в плодах. В данной статье рассмотрены основные подходы для его увеличения.

Цель. Рассмотреть основные подходы для увеличения выхода капсаицина из клеточной культуры перца острого, предположить наиболее оптимальную стратегию культивирования.

Материалы и методы. Материалы для данной статьи были взяты из таких библиографических баз данных научной литературы, как Scopus и Springer. При обработке информации использовались следующие методы: добавить анализ данных **вторичных исследований** анализ, абстрагирование, индукция и синтез.

Результаты и их обсуждение. Согласно исследованию группы итальянских ученых, наиболее выгодным является культивирование клеток растения *Capsicum chinense* Jacq. cv. Naga Morich, так как данная культура оптимальная по соотношению прироста биомассы к массе произведённого капсаицина, по сравнению с *Capsicum chinense* Jacq. cv. Pimenta de Neyde и *Capsicum annuum* L. cv. Mazzolino [3]. Исследование индийских ученых показало, что для индукции каллусогенеза лучше всего подходит среда Мурасиге-Скуга, содержащая 3% сахарозы и 0,8% агара с добавлением следующих фитогормонов: 2 мг/л 2,4-дихлорфеноксиуксусной кислоты и 0,5 мг/л кинетина. При этом индукция каллуса достигла 100% [5]. Культивирование иммобилизованных клеток показало значительное увеличение выхода по сравнению с клеточными суспензиями [2, 4]. Одним из способов увеличения выхода является добавление метилжасмоната в питательную среду. Вследствие добавления данного вещества в клетках увеличивается продукция ванилина и феруловой кислоты, что повышает уровень синтеза капсаициноидов и других веществ.

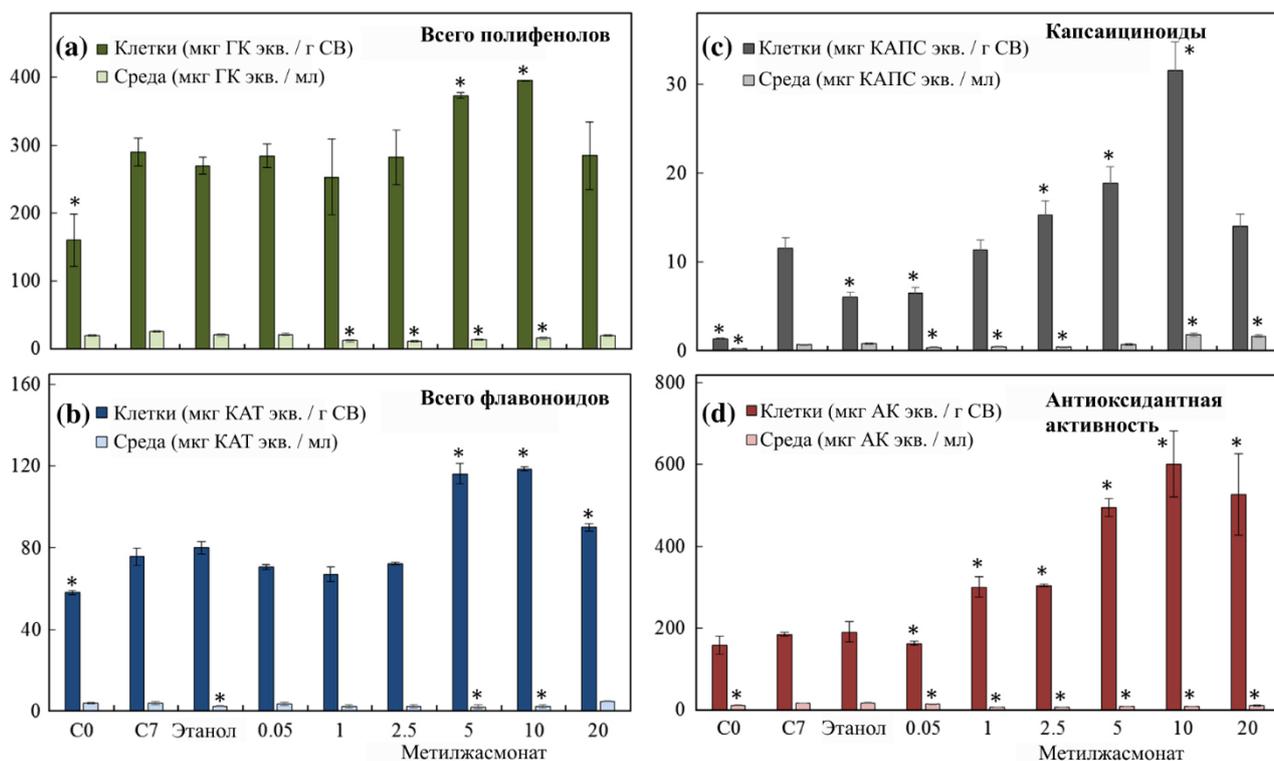


Рисунок 7 – Уровни полифенолов (а), флавоноидов (б), капсаициноидов (с) и антиоксидантной активности (д) в клетках и культуральной среде *Capsicum chinense* (cv. Naga Morich), выращенных в присутствии возрастающих концентраций метилжасмоната. Символ звезды указывает на статистически значимую разницу (t-критерий Стьюдента, $p < 0,05$) между одними данными и контролем на 7-й день (С7). ГК: галловая кислота; КАТ: катехин; КАПС: капсаицин; АК: аскорбиновая кислота. [3]

В результате эксперимента учеными было выяснено, что оптимальная концентрация метилжасмоната – это 10 μM (рисунок 1). При данной концентрации выход капсаицина оказался в 2,8 раза больше по сравнению с контролем. Также увеличилось общее количество полифенолов (увеличение в 1,3 раза) и общее количество флавоноидов (увеличение в 1,6 раз), однако наблюдалось снижение количества биомассы на 55%. При дальнейшем увеличении концентрации метилжасмоната до 20 μM происходит резкое снижение всех показателей [3]. Экстракты из *Aspergillus niger* и *Rizopus oligosporus* также стимулируют синтез капсаицина [2]. Считается, что основным действующим веществом является цитозан. При использовании его в чистом виде он оказывает положительное влияние, однако не так сильно, как грибные экстракты. Другой подход – это использование прекурсоров, в данном случае аминокислот предшественников. Добавление 100 μM валин или фенилаланина показало прирост концентрации капсаицина на 46% по сравнению с контрольным образцом, при их одновременно использовании (по 100 μM каждого) выход увеличился на 67% (рисунок 2). Использование комбинации прекурсоров повышает выход в 1,8 раза по сравнению с их использованием в одиночку [3]. На уровень выработки капсаицина также можно влиять, изменяя осмотические условия. Так максимальная значение концентрации капсаициноидов получилось достичь на 15 день при добавлении в среду Мурасиге-Скуга 87,64 μM сахарозы и 40 μM хлорида натрия. При дальнейшем увеличении концентраций, происходило снижение выработки [5].

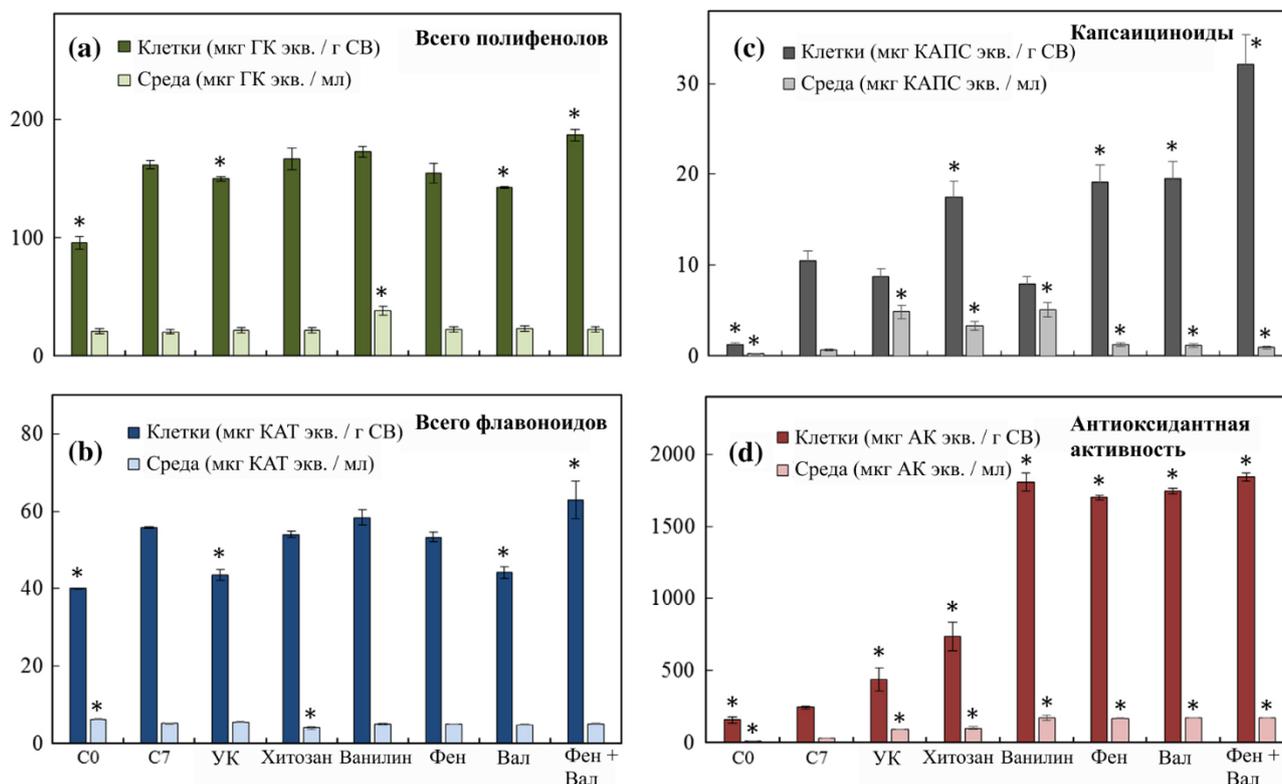


Рисунок 8 – Уровни полифенолов (а), флавоноидов (б), капсаициноидов (с) и антиоксидантной активности (д) в клетках и культуральной среде *Capsicum chinense* (cv. Naga Morich), выращенных в присутствии уксусной кислоты (0,01% v/v), 50 мкг/мл хитозана или 100 мкМ ванилина, Phe, Val в отдельности или комбинации Val и Phe (по 100 мкМ). Символ звезды указывает на статистически значимую разницу (t-критерий Стьюдента, $p < 0,05$) между одними данными и контролем на 7-й день (C7). УК: уксусная кислота, ГК: галловая кислота; КАТ: катехин; КАПС: капсаицин; АК: аскорбиновая кислота. [3]

В одном из исследований индийских ученых рассматриваются методы рН и питательного стресса. Исключение NH_4NO_3 из питательной среды Мурасиге-Скуга показало наибольший прирост в капсаицине на 10 день эксперимента для суспензионной культуры и на 20 день для иммобилизованной культуры, по сравнению с контролем и с образцами, где исключили KNO_3 , KH_2PO_4 или сахарозу. Было также показано влияние уровня рН на синтез капсаицина. Для суспензионной культуры *Capsicum chinense* Jacq. оптимальное значение рН равняется 6, что дало прирост в 1,8 раза на 15 день по сравнению с контролем (рН = 5,8). Для иммобилизованных клеток изменение рН в пределах значений 5 и 6 не давало значительного прироста в выработке капсаицина. Более сильное изменение рН приводило к снижению концентрации [4].

Заключение. Для оптимизации получения капсаицина *in vitro* было исследовано множество подходов. Основные из них: использование биологически активных веществ (метилжасмонат, цитозан) введение аминокислот предшественников, методы рН и питательного стрессов, изменение осмотических условий культивирование. Однако уровень биосинтеза капсаицина в культуре с их использованием не превышает уровень в плоде перца. Возможно, что использование комбинации нескольких методов с использованием иммобилизованных клеточных культур сделает биотехнологический подход более рентабельным.

Библиографический список

1. Biomedical and Antioxidant Potentialities in Chilli: Perspectives and Way Forward / S. Bal, A.B. Sharangi, T.K. Upadhyay, [et al.]. – DOI 10.3390/molecules27196380 // *Molecules*. – 2022. – Vol. 27. – Iss. 19. – P. 6380-6409.
2. Biotechnological advances on in vitro capsaicinoids biosynthesis in *capsicum*: a review / M. Kehie, S. Kumaria, P. Tandon [et al.]. – DOI 10.1007/s11101-014-9344-6 // *Phytochem Rev.* – 2015. – Vol. 14. – P. 189-201.
3. *Capsicum* spp *in vitro* liquid cell suspensions: A useful system for the production of capsaicinoids and polyphenols / Maura Ferri, Nicolò Gruarin, Federica Barbieri, Annalisa Tassoni. – DOI 10.1080/11263504.2017.1305998 // *An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology*. – 2018. – Vol. 152. – Iss. 3. – P. 436-444.
4. Kehie, M. Manipulation of culture strategies to enhance capsaicin biosynthesis in suspension and immobilized cell cultures of *Capsicum chinense* Jacq. cv. Naga King Chili / M. Kehie, S. Kumaria, P. Tandon – DOI 10.1007/s00449-013-1076-2 // *Bioprocess and Biosystems Engineering*. – 2014. – Vol. 37. – P.1055-1063.
5. Kehie, M. Osmotic stress induced-capsaicin production in suspension cultures of *Capsicum chinense* Jacq.cv. Naga King Chili / M. Kehie, S. Kumaria, P. Tandon – DOI 10.1007/s11738-012-0991-1 // *Acta Physiol Plant.* – 2012. – Vol. 34. – P. 2039–2044.