

Новый метод выделения из мицелия *Mortierella alpina* смеси эфиров жирных кислот с высоким содержанием арахидоновой кислоты

Миронов А.А., Моргунов И.Г.

¹ФИЦ «Пушинский научный центр биологических исследований РАН»,
Институт биохимии и физиологии микроорганизмов им. Г.К. Скрыбина РАН,
г. Пушкино; asolfr@rambler.ru

Классическим методом выделения липидов из биомассы микроорганизмов является метод Фолча [1], который заключается в экстракции липидов из биомассы смесью хлороформ-метанол (2:1) с последующим гидролизом липидов и метилированием жирных кислот. Этот метод довольно трудоемок, требует предварительного разрушения клеток механической гомогенизацией или обработки ультразвуком и используется в основном при исследовании фракционного состава липидов.

Для анализа жирно-кислотного состава липидов разработаны методы прямой этерификации биомассы с выделением смеси метиловых (или этиловых) эфиров жирных кислот. В частности, был предложен экспресс-метод выделения метиловых эфиров жирных кислот с использованием ацетилхлорида [2]. Этот метод действительно очень точен, прост и нетрудоемок; однако, в связи с тем, что ацетилхлорид в 2010 г. был включен в РФ в список прекурсоров, мы были вынуждены разработать новый метод метанолиза, применительно к нашим образцам биомассы, обеспечивающий получение смеси метиловых эфиров жирных кислот с высоким содержанием арахидоновой кислоты (АК).

Из литературных источников известен метод экстракции липидов из биомассы с использованием смеси метанол-хлористоводородная кислота-хлороформ (10:1:1, об./об.) и последующей прямой трансэтерификацией в течении 60 или 120 мин [3].

В ходе выполнения работы были изучены следующие параметры метанолиза: состав реакционной смеси, время, температура и способ гидролиза (нагревание на водяной бане с обратным холодильником или выпаривание на песочной бане). Эксперименты проводили на образцах лиофилизированной биомассы *Mortierella alpina* LPM-301 определенного состава. Для контроля использовали экспресс-метод выделения метиловых эфиров жирных кислот с использованием ацетилхлорида [2]. Полученные результаты показали, что наибольшая экстракция липидов с высоким содержанием АК получена при обработке лиофилизированной биомассы *M. alpina* смесью, содержащей 10% HCl в метаноле и 10% хлороформа с последующим нагреванием на водяной бане с обратным холодильником при 80 °С в течение 3 ч. Внесение гексана в реакционную смесь отрицательно сказывалось на экстракции липидов и АК.

Литература

1. Folch et al. *J Biol Chem*, 1957;226(1):497–509.
2. Султанович и др. *Патент 968072 СССР*, 1982 г.
3. Lewis et al. *J Microbiol Methods*, 2000, 43(2):107-116.