



גידול אצות ימיות בעלות ערך כלכלי

עמי בן-אמוץ, המכון הלאומי לאוקיאנוגרפיה, חקר ימים ואגמים לישראל

אצות המים המתוקים והאצות הימיות החד- והרב-תאיות המופיעות בטבע משתייכות ל- 12 מחלקות מתוכן רק מחלקה אחת, הירוקיות, מקבילה לצמחים עילאיים יבשתיים. יתר מחלקות האצות מכילות מגוון רחב של זנים ומינים השונים מצמחים עילאיים בהרכב הפיגמנטים, חומרי התשמורת, מבנה והרכב התאים והרקמות, מסלולים ביוכימיים ייחודיים, כושר תנועה עצמאי, ועוד. למרות המחקר הרב שנערך במבחר רחב של אצות במהלך המאה הקודמת, לימוד חומרי הטבע בעלי פעילות ביולוגית הייחודיים לאצות טרם מוצה. גם כיום האצות ממשיכות למשוך את תשומת הלב של המדענים לזיהוי, בידוד והפקה של חומרים בעלי ערך כלכלי, תזונתי ורפואי. המחלקה לביולוגיה ימית וביוטכנולוגיה במכון הלאומי לאוקיאנוגרפיה חוקרת את חומרי טבע המיוצרים באצות חד-תאיות ימיות בניסיון לאתר את הפוטנציאל הכלכלי הטמון באצות אלו. אחת הדוגמאות למחקר מדעי שתוצאותיו ייושמו בהצלחה במערכת מסחרית מתוארת להלן.

דונליאלה, אצת מודל לביוסינטזה של בטא-קרופן תזונתי-רפואי

דונליאלה, אצה ירוקית, חד-תאית, חסרת דופן ובעלת שני שוטונים מכילה, מבין זנים רבים ידועים, שני זנים נבחרים: *Dunaliella salina Teod* ו *Dunaliella bardawil* המסוגלים להפיק כמויות גדולות של בטא-קרופן בכדוריות שומניות בחללים שבין התילקואידיים של הכלורופלסט. זנים אחרים של דונליאלה חסרים תכונה מיוחדת זו של קרוטנאווגנה (סינתזה מוגברת של קרוטן).

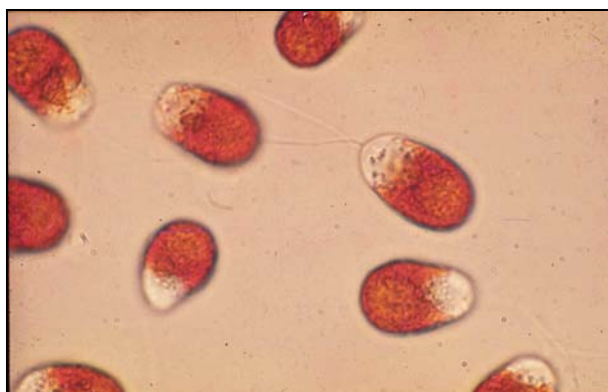
הזנים העשירים בבטא-קרופן של דונליאלה נפוצים במקווי מים מלוחים המכילים יותר מ-10% מלח ובעיקר במקוויים בהם רמת מלח הבישול (NaCl) מתקרבת לנקודת הרוויה. ים-המלח דוגמא אופיינית לתרבות בהן שולטת האצה *Dunaliella bardawil*. גם באגם המלח הגדול שבמדינת יוטה בארצות הברית, באגם הורוד באוסטרליה ובאזורים גיאוגרפיים לאורך חופי הים בהם יש לגונות מלוחות וחשופות לקרינה מתרבות אצות אלו. מקורו של הצבע האדום-כתום בנישות אקולוגיות מלוחות ומוארות, נובע בדרך כלל מצבעה הבולט של דונליאלה העשירה בבטא-קרופן. אוכלוסיות טבעיות של האצה נוטות לנוע בצורה פטו-טקטית (תנועה המכוונת על ידי האור) ולהתרכז על פני השטח של בריכות אידוי מלוחות, ריכוז האצות יוצר קרום על פני המים בעל צבע כתום אופייני.

השראה להפעלת הקרוטנאווגנה

בתנאים שאינם גורמים להפעלת סינתזה מוגברת של קרוטן (קרוטנאווגנה) או שאינם גורמים לאגירת בטא-קרופן, צבען של שתי האצות יצרניות הקרוטן (*Dunaliella salina Teod*) ושל (*Dunaliella bardawil*) ירוק והן מכילות רק כ-0.3% בטא-קרופן, בדומה לתכולת עלי צמחים ואצות אחרות. לאחר ההשראה להפעלה, ובתנאי גידול מתאימים, הבטא-קרופן מצטבר בכדוריות בכלורופלסטים בכמות הגדולה מ-10% ממשקל החומר היבש. תכולה זאת של בטא-קרופן הגבוהה ביותר שנמצאה בכל אורגניזם ידוע. היקף האגירה וקצב הסינתזה של בטא-קרופן תלויים במספר גורמים פיסיולוגיים: עצמת האור, ריכוז המלח, הטמפרטורה, ומחסור בחומר מזין. בתנאים בהם עוצמת אור חזקה או בינונית, רוב הגורמים המעכבים גדילה מעודדים את ההצטברות של בטא-קרופן. מכל הגורמים שתוארו רכוז המלח נחקר בהיקף נרחב מהאחרים. אצה הגדלה על מצע המכיל יותר מ-4M (23%) NaCl צבעה כתום. קרוטנאווגנה דומה מתרחשת בגדילה איטית בטמפרטורות גבוהות או נמוכות, במחסור בגפרה או חנקה, או על ידי גורמי עיכוב אחרים. כמות הבטא-קרופן המצטברת בתנאים אלה מתאימה לכמות הכוללת של האור הנבלע במחזור חלוקה אחד של תאי האצה. ככל שעצמת האור חזקה ומהירות הגדילה איטית כך תגדל סינתזת הבטא-קרופן. הרעב לחנקות באצות מעורר עניין מיוחד. גדילה במחסור בחנקן ובעצמת אור נמוכה תניב תאים בהם תכולת החלבון והכלורופיל נמוכה מזו שבתאים שגדלו ללא הגבלה בחנקן. הכמות הגדולה ביותר של בטא-קרופן לתא נוצרת בחשיפה של תאי אצה במחסור בחנקן ועצמת אור גבוהה בתקופת זמן קצרה של יום או יומיים.

התהליך להשראת ההפעלה של סינתזת הבטא-קרופן בתאים על ידי חשיפתם לעצמת אור גבוהה אינו יכול לשמש לסינתזת פיטואן (תרכובת המוצא לסינתזת הקרוטנואידים, בת 40 הפחמנים)

מכיוון שהתאים הנוצרים בדרך זאת רגישים מאוד לאור ומתפרקים כתוצאה מחימצון. השפעת איכות האור על הקרוטנאוגנזה מעידה שסינתזת בטא-קרופן ואגירתו ב-*Dunaliella bardawil* אינה תלויה באיכות האור בתחום בליעת האור המפעיל את פעילות הפוטוסינתזה. האור הנבלע על ידי הכלורופיל באצה מספיק כדי להביא לייצור הקרוטן.



Dunaliella bardawil

איזומרים מרחביים של בטא-קרופן

הבטא-קרופן המצטבר בתאי דונליאלה שעברו השראה רגילה לסינתוז מורכב מתערובת של שני סטריאו-איזומרים עיקריים, all-trans ו-9-ציס, בכמויות שוות בקירוב. בדומה לכמות המצטברת של בטא-קרופן, גם היחס בין הסטראו-איזומרים שבתערובת תלוי בכמות האור שנבלעה במחזור חלוקה אחד של תאי האצה. ככל שעצמת האור חזקה ומהירות הגדילה נמוכה, כך גבוה היחס בין איזומר 9-ציס לאיזומר all-trans. נוכחות איזומר 9-ציס והתלות של סינתזת חומרי המוצא לסינתזה, בעצמת האור מהווים מאפיינים בולטים בחלקי צמחים רבים. לבטא-קרופן 9-ציס תכונות פיזיקו-כימיות ייחודיות: תחומי שיא בליעת האור שונים משל האיזומרים האחרים, שמנוניות, מסיסות רבה בממיסים הידרופוביים וקושי בגיבוש.

ביוסינתזה של בטא-קרופן

הביוסינתזה של בטא-קרופן מתקיימת בארבעה שלבים: יצירה של יחידות איזופרן, קשירתן אחת לשנייה בשרשרת ארוכה (5 יחידות) הרחקת המימנים מחלק מהקשרים בין פחמן לפחמן תוך כדי יצירת קשרים כפולים בין אטומי הפחמן (תהליך המכונה דה-סטורציה או בטול הרוויה באטומי מימן) ובדרך זאת נוצר ליקופן. בשלב האחרון שני הקצוות של מולקולת הליקופן יוצרים מבנים טבעתיים וכך נוצר הבטא-קרופן.

תפקוד הבטא-קרופן באצה

הוצעו ונחקרו מספר סיבות לסינתזה המוגברת של הבטא-קרופן ולתפקודו בדונליאלה:

1. **מאגר פחמני.** הבטא-קרופן משמש מאגר פחמן בתנאים מגבילים. השערה זו נחקרה על ידי בדיקת ניצול בטא-קרופן במעבר לבית גידול חשוך או חסר בפחמן דו-חמצני בתנאים מוארים. הראיה שבטא-קרופן לא נוצל מוכיחה כי תפקידו אינו מאגר פחמן.
2. **הגנה מפני חמצן סינגלטי (singlet oxygen quencher)** בטא-קרופן מגן כנגד פעולת חמצן סינגלטי תוצר מקוטלז של כלורופיל מעורר. השערה זו נבחנה בצילום במיקרוסקופ אלקטרוני של *Dunaliella* העשירה בבטא-קרופן. לאור המרחקים הגדולים בין כדוריות הבטא-קרופן לבין הכלורופיל שבתילקואיד, ולאור זמן החיים הקצר של גורמים הרסניים אלו, הכמות הגדולה של בטא-קרופן אינה יכולה להיות אפקטיבית במכניזם זה. לפיכך באצה הקרוטן אינו מגן כנגד חמצן סינגלטי.
3. **אפקט הבליעה.** במצבי עקה הבטא-קרופן משמש כמסך הבולע קרינה עודפת. השערה זו מקובלת למדי לאור העובדה שדונליאלה עשירה בבטא-קרופן מוגנת כראוי כנגד קרינת חזקה של אור כחול, ואינה מוגנת כנגד קרינה חזקה של אור אדום. זנים שאינם צוברים בטא-קרופן וכן האצה *Dunaliella bardawil* עניה בבטא-קרופן אינה מוגנת כנגד קרינה ואינה שורדת בחשיפה לקרינה גבוהה לעומת אותה אצה *Dunaliella bardawil* העשירה בבטא-קרופן ואשר גדלה ומשגשגת בתנאים אלה. לכן נראה כי תפקיד ה בטא-קרופן ב *Dunaliella* מתמצה בהגנה בפני קרינה.

ברירת זנים בעלי ריכוז בטא-קרוטן גבוה

יכולת הבטא-קרוטן להגן על הדונליאלה כנגד קרינת אור כחול המאפשר הישרדות בקרינה כחולה עזה משמשת כאבן בוחן לבחירת מוטנטים של *Dunaliella bardawil* המצטיינים באגירת בטא-קרוטן. במוטנטים אלו מזורזים גם שלבי הביניים של יצירת הבטא-קרוטן. ייצור האצה לסינתזה מוגברת של בטא-קרוטן מתבצע באזורים עתירי קרינה ובבריכות בעלות ריכוז מלח גבוה שאינו מאפשר גדילת אורגניזמים זרים. הייצור נערך בשתי שיטות עיקריות. בשיטה השכיחה האינטנסיבית, שולטים במירב הגורמים המשפיעים על הכימיה וגדילת התאים. הבקרה על זמינות החנקות בגדילה ממושכת של תאי דונליאלה מהווה את הגורם המגביל לגדילת האצה. בדרך השנייה של הגידול הנרחב, גדלה האצה בקצב איטי מאוד בתנאים בהם ריכוז המלח קרוב לרמת הרוויה. ריכוז המלח הגבוה מהווה גורם לבקרה ולייצור רציף של הבטא-קרוטן. ייצור בטא-קרוטן המופק מדונליאלה בקנה מידה גדול מבוסס על גידול במצע המכיל חומר אי-אורגני ופחמן דו-חמצני כמקור פחמן.

יתרונות מיוחדים של ייצור בטא-קרוטן טבעי

בהתאם למידע בכמה מחקרים אפידמיולוגיים שפורסמו בשנים האחרונות תוספת בטא-קרוטן סינתטי למזון הרגיל אינה מגינה בפני מחלת הסרטן ונמצאה אפילו מזיקה. תוצאה שלילית מפתיעה זו באה בניגוד לראיה ממחקרים רבים בבני אדם ובבעלי חיים אשר ניזונו במזון עשיר בפירות וירקות והראו סיכון נמוך לחלות בסוגים מסוימים של סרטן. ככל שמצטבר מידע בדבר יתרונות הקרטנואידים ברפואה מונעת, כן מתעורר עניין מיוחד בתרכובות הטבעיות של הבטא-קרוטן.

בטא-קרוטן טבעי, כמו זה המצוי מדונליאלה וברוב הפירות והירקות, מכיל תערובת של איזומרים שונים כמו all-trans ואיזומר 9- ציס ומספר איזומרים נוספים. הדרישה לבטא-קרוטן שנספג טוב במעי ויעיל למניעת מחלות, יצרה שוק חדש ובעל פוטנציאל מסחרי גדול עבור תערובת איזומרי בטא-קרוטן המופקת מדונליאלה.

מדוע אפוא עולה הבטא-קרוטן הטבעי המכיל תערובת של ציס וטרנס על הבטא-קרוטן הסינתטי המכיל תרכובת אחת בלבד all trans. נמנו לכך שלוש סיבות:

- א. בטא-קרוטן all-trans כמעט ואינו מסיס בשמן ונוטה להתגבש בקלות. לעומתו האיזומר 9- ציס מסיס מאוד בשמן, אינו מתגבש, עשוי לשמש כממס לאיזומר all-trans ועל ידי כך לשמור על התערובת כולה במצב נוזלי. ההבדלים במצב נוזלי. ההבדלים במצב הציבירה מביאים כפי הנראה להבדלים בזמינות. ערבוב כמויות שוות של שני הסטראו-איזומרים תניב תערובת שמנונית בשל הריכוז הגבוה של בטא-קרוטן 9- ציס.
- ב. הקשר הכפוף 9- ציס חשוף לתהליכי חמצון ושיחלוף אלקטרוני במידה רבה מאשר קשר טרנס ישר. לכן, כנראה, תרכובת 9- ציס מהווה פעילות אנטי חמצנית יעילה יותר מאשר תרכובת all-trans.
- ג. תרכובת 9- ציס מהווה קודמן ליצירת החומצה 9- ציס רטינואית (נגזרת של ויטמין A) בעלת תפקודים ביולוגיים מיוחדים.

השפעות בריאותיות של דונליאלה

המודעות הגוברת בעולם לחשיבות צריכת הקרטנואידים בכלל ולאלה ממקור טבעי בפרט, הביאה להתעניינות באצה דונליאלה כמקור ל בטא-קרוטן. בטיחות השימוש באצה זו כחלק מן הדיאטה (5% או 10%) נבדקה במשך 3 דורות של חולדות ולא נמצאו הבדלים בין קבוצת הביקורת שלא קיבלה דונליאלה ובין קבוצות הניסוי, מבחינת מראה והתנהגות כללית, גדילה יכולת הרבייה וההרכב הכימי של הדם. במחקר נוסף נמצא שיכולת הרבייה וקצב הגידול משתפרים בעקבות אכילת האצה. נמצא גם שהדונליאלה יכולה לשמש מקור לויטמין. ריכוזי הקרוטן בכבדי חולדות שקבלו דונליאלה כמקור לקרוטן היו גבוהים פי 3 עד 4 מאשר בכבד חולדות שקבלו קרוטן סינתטי באותה רמה ובאפרוחים היחס היה פי 10. הבדלים אלה בין מקורות הקרוטן התגלו רק כאשר כמות הקרוטן בדיאטה הייתה גבוהה (1 גרם/ק"ג דיאטה). בריכוזי קרוטן נמוכים פי שלושים (29 מ"ג/ק"ג דיאטה) לא נמצאו הבדלים דומים. תופעה זו מוסברת בהבדלים בתכונות הפיזיקו-כימיות בין הקרוטן הסינתטי, שהוא ברובו המוחלט all-trans, ובין תערובת האיזומרים שמקורה מדונליאלה, המכילה תערובת איזומרים.

מניעת ממאירות ופעילות נוגדת דלקתיות

מספר מחקרים אפידמיולוגיים במניעת ממאירות הראו השפעה חיובית של בטא-קרוטן טבעי על פני הסינתטי. לפיכך, קיימת חשיבות רבה לאפיון השפעת תמצית הקרטנואידים מדונליאלה על תופעות ממאירות. קיימות מספר השערות לגבי המנגנון בו פועלים הקרטנואידים למניעת סרטן,

מניעת תהליכי חימצון בגוף, השפעות על המערכת החיסונית, השפעות על פעילות אנזימים שונים והשפעה על תקשורת בין תאית. לאור זאת ערכנו בשיתוף פעולה מספר ניסויים לבחינת יעילות הקרוטנים המופקים מדונליאלה כנגד ממאירות ותהליכים דלקתיים:

א. מתן תמצית דונליאלה-ספירולינה מנעה ביעילות רבה התפתחות סרטן בכיס הלחי באוגר כתוצאה מהשראת ממאירות על ידי החומר המסרטן anthracene. לתמצית שהופקה מהאצה הייתה השפעה חזקה מאשר לבטא-קרוטן סינטטי בלבד או ל-cantaxanthin (קרוטנואיד אחר).
 ב. בעכברות שקבלו תוספת דונליאלה, הופיעו פחות גידולים ממאירים ספונטאניים בבלוטות החלב יחסית לחולדות שלא קבלו את התוספת.
 ג. בתנאי חימצון מוגבר על ידי הזנת חולדות בשמן מחומצן, בחולדות שקיבלו דונליאלה נשמר ריכוז קרוטנים בדם גבוה מאלו שקיבלו קרוטן סינטטי.
 ד. בחולדות שקיבלו אלכוהול לשתייה ובנוסף דונליאלה נמצא קרוטן האצה יעיל בהרבה מהקרוטן הסינתטי בבריאות החולדות ובשמירה על ריכוז וויטמין A בגוף.
 ה. בחולדות בהם הושרתה באופן מלאכותי דלקת מעי על ידי פעילות רדיקלים חופשיים, מתן האצה מנע החרפת הדלקת במידה רבה מאשר מתן קרוטן סינתטי. תוצאה דומה הובחנה גם בבני אדם בשני ניסויים קליניים: בראשון, מתן דונליאלה לחולי סוכרת הקטין את חימצון ה-LDL ("הכולסטרול הרע") שריכוזו כרגיל גבוה בחולים אלו. בשני, בחולי דלקת הבלב, דונליאלה הטיבה עם החולים.

לסיכום, האצה דונליאלה מכילה את הריכוז הגבוה ביותר בטבע של בטא-קרוטן. הקרוטן האצתי מורכב מכ 50% בטא-קרוטן מסוג all-trans וכ 50% איזומר 9-ציס. לאיזומר 9-ציס תכונות פיזיקו-כימיות ייחודיות המעלות את הזמינות, הספיגה, הפעילות הביולוגית והאנטי חמצנית של הקרוטן מהאצה באדם ובבעלי חיים. תכונות אלו מקנות לקרוטן הטבעי יתרון תזונתי-רפואי על הקרוטן הסינטטי המשווק כיום באופן מסחרי.

הצלחה בזיהוי וישום בטא-קרוטן מהאצה דונליאלה הובילה למחקרים על שורה של אצות ימיות חד-ורב-תאיות אחרות בעלות תכולה מגוונת של חומרי טבע בעלי פוטנציאל ייחודי שטרם מוצה. המחלקה לביולוגיה ימית וביוטכנולוגיה במכון הלאומי לאוקיינוגרפיה מפתחת כיום פרויקט בשיתוף עם חברת החשמל לישראל ומשקיעים פרטיים לגידול של אצות ימיות חד-תאיות לצורך הפקה של חומצות שומניות ארוכות ובלתי רוויות. מטרת המחקר להחליף את שמן הדגים הקיים כיום בשוק הסובל מריח דגים חריף ותכולת כולסטרול גבוהה בתוצר אצתי נקי ואיכותי.



קפסולות של דונליאלה



מבט מקרוב על בריכת גידול במפעל



מפעל חברת NBT באילת לגידול אצות דונליאלה



מתקן חלוץ לגידול אצות ימיות חד-תאיות בתחנת הכח רוטנברג באשקלון