

УДК 579.64

УСЛОВИЯ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ШТАММОВ *BLAKESLEA TRISPORA* ДЛЯ ПРОДУЦИРОВАНИЯ β -КАРОТИНА

Басковцева А.С.(Университет ИТМО), Кыздарбек У.(Университет ИТМО)

Научный руководитель – к.т.н., доцент Баракова Н.В.

(Университет ИТМО)

Аннотация. Проведен анализ способов культивирования штаммов *Blakeslea trispora* на различных питательных средах для получения β -каротина. Установлено, что большей продуктивностью обладает пара штаммов *Bl. trispora* 185Б(+) и 185Б(-). Эта пара может быть выбрана в качестве продуцента. В качестве углеводного питания для этих штаммов можно использовать либо зернобобовое сырье с добавлением амилолитических ферментов, либо мелассу. Также питательная среда должна содержать растительные масла или отходы масложировой промышленности, факторы роста и стимулятор.

Введение. Традиционными источниками для получения промышленного β -каротина являются такие растительные источники, как морковь, тыква, облепиха, шиповник. Однако в последнее время экологическое состояние почв, снижение плодородия и накопление различных источников заболеваний растительного сырья заставляют уделять больше внимания биотехнологическим способам получения необходимых человеку полезных веществ. Проблема оптимизации биосинтеза β -каротина привлекает внимание ученых в связи с огромной пользой использования данного вещества в медицине, фармацевтике, пищевой промышленности и расширением практического применения β -каротина.

Основная часть. К биотехнологическому способу получения β -каротина можно отнести культивирование микроорганизмов-продуцентов. Продуктами культивирования могут быть как клетки микроорганизмов, так и продукты их жизнедеятельности. Среди изученных микроорганизмов сверхсинтез β -каротина установлен у мицелиального гриба *Blakeslea trispora*. Этот гриб, обладая способностью к сверхсинтезу каротина и жирных кислот линолево-линоленового типа, представляет собой интересный образец для изучения действия различных химических факторов на синтез β -каротина.

В любом биотехнологическом процессе ключевую играют биологический агент, его природа и технологические свойства. Критериями эффективности биотехнологических процессов являются скорость роста продуцента, выход продукта, энергозатраты, экономический коэффициент и затраты на обезвреживание отходов. Опираясь на данные факторы, можно подобрать наиболее эффективные условия для культивирования гриба *Blakeslea trispora*.

Получение β -каротина осуществляют путем совместного глубинного культивирования пары (+) и (-) штаммов на питательных средах различного состава.

В патентах Франции №№ 1456569 и 1449879 пару штаммов *Bl. trispora* NRRL 2456(+) и NRRL 2457(-) культивируют на среде, содержащей крахмал, дрожжевой экстракт, соевое и хлопковое масло, нефтяные углеводороды, тиамин и β -ионон – стимулятор синтеза β -каротина. Добавление к среде 0,5 г/л фуруил-2-гидразина (стимулятора роста) обеспечивало накопление β -каротина в количестве 250500 мкг/100 мл, а внесение в среду 2 г/л формил-4-пиридина позволяло получить 306500 мкг /100 мл среды. Недостатком этого способа является то, что наличие в составе данной среды продуктов нефтепереработки ограничивает использование получаемого β -каротина, в частности, в пищевых продуктах. Другой недостаток состоит в том, что для достижения высокой продуктивности необходимо использовать химические стимуляторы роста продуцента.

Известны пары (+) и (-) штаммов *Bl. trispora*, способные синтезировать бета-каротин при росте на простых по составу средах, не содержащих нефтепродукты. В патенте США

№ 2890989 пару штаммов *Bl. trispora* NRRL 1348(+) и NRRL 2457(-) культивируют на среде с негидролизованной размельченной кукурузой (5%) и соевой мукой (5%), растительными маслами (4%), тиамин и поверхностно-активным веществом, которое также заменяет углеводороды нефтепродуктов. β -ионон добавляют через 48 ч роста. В описанных условиях за 144 ч обеспечивается накопление β -каротина в количестве 51600 мкг/100 мл среды. Недостатком способа является низкая продуктивность.

Похожий способ культивирования описан в патенте RU 2 053 301, где получена пара штаммов *Bl. trispora* 185Б(+) и 185Б(-), которая при совместном культивировании в течение 114 ч на среде, содержащей в качестве основных компонентов негидролизованные соевую и кукурузную муку, растительное масло, тиамин, антиокислитель и β -ионон, обеспечивает в лабораторных условиях средний уровень накопления β -каротина, равный 300000 мкг/100 мл культуральной жидкости.

В патенте RU 2 177 506 описан синтез новых штаммов *Bl. trispora* КР 74(+) и КР 86(-), обладающих способностью утилизировать в качестве субстрата в том числе отходы масложировой, крахмалопаточной и сахарной промышленности. Выращивание посевного материала производят в посевных аппаратах. Пример состава питательной среды: подсолнечный шрот – 8–12%, меласса или зеленая патока – 1–2%, углеводороды – 4,2–5%, K_2HPO_4 – 0,05%, тиаминхлорид – 0,0002%. Культивирование длится 40–48 ч при постоянном перемешивании, непрерывной подаче стерильного воздуха и температуре 26–28°C.

По готовности посевной материал передается в ферментер на охлажденную питательную среду того же состава. В ферментер до стерилизации среды вводят β -ионон в количестве 0,05–0,15% и антиоксидант (0,03–0,05%). Режим культивирования тот же, что и для выращивания посевного материала. Процесс заканчивают через 96–100 ч пастеризацией культуральной жидкости при 75–80°C в течение 10–15 минут, фильтрацией и высушиванием мицелиальной массы при температуре не более 60°C под вакуумом до влажности не более 7%. Полученную мицелиальную массу используют для извлечения β -каротина, содержание которого в мицелиальной массе составляет 3–4,5%.

Вывод. Оптимальной продуктивностью обладает пара штаммов *Bl. trispora* 185Б(+) и 185Б(-). Эта пара может быть выбрана в качестве продуцента. В качестве углеводного питания для этих штаммов можно использовать либо зернобобовое сырье с добавлением амилолитических ферментов, либо мелассу. Также питательная среда должна содержать растительные масла или отходы масложировой промышленности, факторы роста и стимулятор – β -ионон.