

УДК 582.281.212:579.66:57.083.132

Н.Б. МИТИНА, И.М. ЗУБАРЕВА, С.Р. БОЙКО, А.А. БУЛЕЙКО

МОДЕЛИРОВАНИЕ ПРОЦЕССА ВЛИЯНИЯ МАЛЬТОЗЫ НА РАЗВИТИЕ И КАРОТИНООБРАЗОВАНИЯ У *BLAKESLEA TRISPORA*

ГБУЗ „Украинский государственный химико-технологический университет”, г. Днепропетровск
Днепропетровская таможенная академия

Изучено влияние мальтозы, как источника углерода, на развитие продуцента β -каротина. Построены графические и математические модели одновременного влияния основных компонентов питательной среды (источника углерода и азота) на выход биомассы и β -каротина у продуцента *Blakeslea trispora*.

Микробиологический β -каротин в условиях промышленного производства получают периодическим культивированием (+) и (–) форм *Blakeslea trispora*. Одним из путей интенсификации этого процесса является оптимизация питательной среды для выращивания гриба.

Известно, что виды семейства Choanephora, к которому относится и исследуемый продуцент, хорошо усваивают различные дисахариды, в том числе и мальтозу [1]. Имеются также многочисленные данные о положительном влиянии этого соединения на каротиногенез у данного микроорганизма [2,3].

Целью настоящей работы является изучение

© Н.Б. Митина, И.М. Зубарева, С.Р. Бойко, А.А. Булейко, 2012

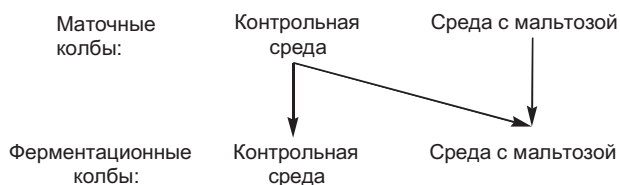
влияния мальтозы на развитие и процесс образования β -каротина у *Blakeslea trispora* в условиях периодического культивирования.

Для проведения эксперимента культивирование продуцента проводили по-стадийно. (+), (–) рабочую культуру продуцента получали пересевом музейной культуры на сусло-агаровую среду. Раздельное выращивание рабочих косячков проводили в течение 7 суток. Затем рабочую культуру также раздельно пересеивали на жидкие среды в маточные колбы и культивировали в течение 3 суток. Выращивание маточного материала гриба и последующую совместную ферментацию проводили в лабораторных условиях, в качалочном режиме, при скорости вращения качалки 220–240 об./мин.

Использовали качалочные колбы емкостью 300 мл, содержащие по 50 мл питательной среды. Культивирование осуществляли при 28°C. Длительность ферментации 120 ч.

В контрольном варианте питательной среды в качестве источника азотного питания использовали кукурузный экстракт (4,1%), источника углеродного питания — зеленую патоку (7,4%). В опыте источник азотного питания остался неизменным, а в качестве источника углеродного питания применили дисахарид мальтозу (3,4%). И в контрольную, и в опытную питательные среды были внесены дигидрофосфат калия (0,05%) и тиамин хлорид (0,0002%). В состав ферментационной питательной среды входит 2–4% масла кукурузного.

Мальтоза содержалась как в маточных, так и в ферментационных средах. Опыт проводился в трех вариантах по следующей схеме:



Опыт проводился в семи повторностях для каждого варианта. В каждой колбе в конце ферментации анализировали биомассу и β-каротин по известным методикам [3,4].

По полученным результатам можно сделать вывод, что грибу на начальных этапах его развития необходима глюкоза, находящаяся в составе зеленой патоки в более доступном для усвоения состоянии, чем мальтоза. Исследуемый дисахарид, вероятно, требуется продуценту на более поздних стадиях метаболизма, когда завершились в основном ростовые процессы, и в мицелии начался синтез каротина. Следовательно, в варианте К→М были созданы наиболее благоприятные для развития гриба и каротиногенеза условия (табл. 1).

Таблица 1

Усредненные данные по накоплению биомассы и β-каротина (активность) грибом *Blakeslea trispora* в контроле и опыте с применением мальтозы

Условия проведения эксперимента	Биомасса г/100 мл	Активность, мкг/100 мл
К→К	7,5	40984±3900
М→М	8,9	50021±200
К→М	7,3	93131±9000

Примечание: К→К — и маточные, и ферментационные колбы содержат питательную среду, в состав которой входит зеленая патока (контроль); М→М — и в маточную, и в ферментационную питательные среды внесена мальтоза в качестве источника углеродного питания; К→М — в состав маточной питательной среды входит зеленая патока, а ферментационной среды — мальтоза.

Так как эксперимент по замене зеленой патоки на мальтозу, в качестве источника углеродного питания, имеет положительный результат, то необходимо подобрать оптимальные соотношения компонентов питательной среды (кукурузного экстракта и мальтозы). Для этого выполняли эксперимент по оптимизации состава исследуемой питательной среды. Изучались варианты сред при концентрации кукурузного экстракта 2, 4, 6, 8 мас.% и мальтозы — 1, 3, 5, 7 мас.%. Таким образом, в ходе этого опыта проверялось 16 вариантов, представленных в табл. 2.

Таблица 2

Проведения опыта по оптимизации питательной среды, содержащей кукурузный экстракт и мальтозу

Мальтоза, %	Экстракт, %			
	2	4	6	8
1	1	2	3	4
3	5	6	7	8
5	9	10	11	12
7	13	14	15	16

Примечание: 1–16 — порядковые номера вариантов опыта.

Опыт проводили в семи повторностях. По окончании ферментации результаты оценивали по накоплению биомассы и β-каротина по вышеуказанным методикам. По полученным данным построена следующая регрессионная модель [5]:

$$A = -19416,2 + 9363,29X_1 + 13566,8X_2 + 688,164X_1^2 - 435,987X_1X_2 - 849,291X_2^2,$$

где A — активность *Blakeslea trispora* по каротину, мкг/100 мл; X₁ — концентрация экстракта, %; X₂ — концентрация мальтозы, %.

Ищем экстремум функции A = f(X₁, X₂).

$$\frac{dA}{dX_1} = 9363,29 + 2 \cdot 688,164X_1 - 435,987X_2 = 0$$

$$\frac{dA}{dX_2} = 13566,8 - 435,987X_1 - 2 \cdot 849,291X_2 = 0$$

Решаем систему двух уравнений с двумя неизвестными:

$$\left. \begin{aligned} 13,76X_1 - 432,987X_2 &= -9363,29 \\ 435,987X_1 + 1698,582X_2 &= 13566,8 \end{aligned} \right\}$$

$$\text{или} \quad \left. \begin{aligned} X_1 - 0,3167755X_2 &= -6,803094 \\ X_2 + 3,895946X_2 &= 31,11744 \end{aligned} \right\}$$

откуда $4,21272X_2 = 37,92053$, т. е.

$$X_2 = 9,001432,$$

$$X_1 = -3,951652.$$

Это теоретический минимум функции

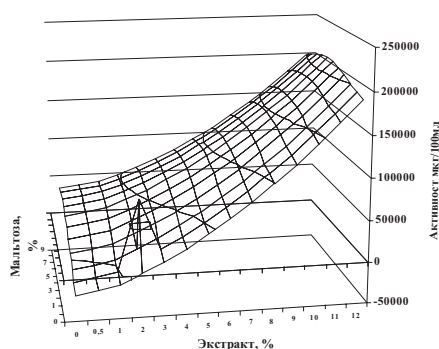
$A_{\min} = 23143,82$. Дальнейшая проверка показывает, что он носит локальный характер, т. е. не является истинным. А именно:

$$a_{11} = \frac{d^2 A}{dX_1^2} = 1376,328;$$

$$a_{22} = \frac{d^2 A}{dX_2^2} = -1698,582;$$

$$a_{12} = \frac{d^2 A}{dX_1 dX_2} = -435,987.$$

Поскольку $a_{11} \cdot a_{12} - a_{12}^2 = -2147721 < 0$, то в данной точке экстремума нет. В таком случае, когда оптимум по A не вычислим, следует изучить поведение функции $A = f(X_1, X_2)$ в исследуемой области. Нами изучены профили изменения активности гриба *Blakeslea trispora* при стационарных уровнях концентрации экстракта и мальтозы. Области изменения переменных — $X_1: 0-12$; $X_2: 0-9$, т. е. наряду с интерполяцией сделана попытка экстраполировать поведение функции в ближайшей неисследованной области и таким образом, попытаться прогнозировать активность гриба *Blakeslea trispora* (рисунок).



Модель активности гриба *Blakeslea trispora* при стационарных уровнях концентрации экстракта и мальтозы

Построенная модель показывает, что в исследованной области оптимальное соотношение экстракта и мальтозы (8% и 6% соответственно) дает ожидаемое среднестатистическое значение активности, $A = 129432$. По модели прогнозируется дальнейшее увеличение активности при повышении концентрации экстракта 10 — 12% предполагается равной 5%. Но это предположение нельзя назвать выводом. Однозначный вывод по имеющимся данным таков: концентрационный оптимум мальтозы и экстракта по максимуму активности гриба не входит в исследуемую область. Его следует искать в области более высоких концентраций экстракта (9% и более) и средних концентраций мальтозы (4—5%).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Биосинтез каротиноидов грибами / Ф.Б. Колот, Л.А. Вакулова, И.Я. Веселов, Г.И. Самохвалов // Успехи современной биологии. — 1971. — Т.71. — № 1. — С.18-42.
2. Колот Ф.Б., Гольшова М.Т. Биосинтез каротиноидов грибом *Blakeslea Trispora* на среде с мальтозой // Прикладная биохимия и микробиология. — 1968. — Е.4. — № 2. — С.222-224.
3. Васильченко С.А., Зубарева И.М., Федорова И.С. Влияние питательных сред на рост и каротиногенез *Blakeslea trispora* // Микробиологический журн. — 1993. — Т.55. — № 4. — С.31-36.
4. Терешина В.М., Меморская А.С., Феофилова Е.П. Эуспресс-метод определения содержания ликопина и β -каротина // Микробиология. — 1994. — Т.63. — № 6. — С.1111-1116.
5. Математичне моделювання та оптимізація об'єктів технології неорганічних речовин / Л.А. Фролова, Б.І. Мельников, Ю.Д. Галівець, Н.Б. Мітіна. — Дніпропетровськ: Жур. фонд, 2010. — 208 с.

Поступила в редакцию 26. 04. 2012