

ЛІПІДНИЙ СКЛАД БІОТЕХНОЛОГІЧНИХ ПРЕПАРАТІВ КАРОТИНУ ВІТАТОНУ І ВІТАДЕПСУ

Л. О. Прімова, канд. біол. наук,

Медичний інститут Сумського державного університету, м. Суми

У статті викладені результати досліджень ліпідного складу біотехнологічних препаратів вітатону і вітадепсу, які виготовлені на основі біомаси мукорового гриба *Blakeslea trispora*, при культивуванні продуцента на експериментальному напівсинтетичному живильному середовищі.

Встановлено, що вітатон і вітадепс відрізняються високим вмістом ліпідів, які містять фосфоліпіди, ксантофіли, каротиноїди, 89,2% і 30,4% яких представлені -каротином відповідно. Відмічено, що частка ліпідів у вітадепсі значно менша, ніж у вітатоні, але кількість каротину у препараті перевищує концентрацію його в інших традиційних природних джерелах, що дозволяє вважати вітадепс повноцінним джерелом цього пігменту.

Ключові слова: гриб *Blakeslea trispora*, вітатон, вітадепс, загальні ліпіди, фосфоліпіди, ксантофіли, каротиноїди, -каротин.

В статье изложены результаты исследований липидного состава биотехнологических препаратов витатона и витадепса, изготовленных на основе биомассы мукорового гриба *Blakeslea trispora*, при культивировании продуцента на экспериментальной полусинтетической питательной среде.

Установлено, что витатон и витадепс отличаются высоким содержанием липидов, которые включают фосфолипиды, ксантофиллы, каротиноиды, 89,2% и 30,4% которых представлены -каротином соответственно. Отмечено, что доля липидов в витадепсе значительно меньше, чем в витатоне, но количество каротина в препарате превышает концентрацию его в других традиционных природных источниках, что позволяет считать витадепс полноценным источником этого пигмента.

Ключевые слова: гриб *Blakeslea trispora*, витатон, витадепс, общие липиды, фосфолипиды, ксантофиллы, каротиноиды, -каротин.

ВСТУП

Гриби відрізняються від інших живих організмів специфічними шляхами метаболізму, різноманітністю ферментного апарату, здатністю продукувати і накопичувати як вторинні метаболіти біологічно активні речовини, що широко використовуються у медицині, ветеринарії, різних галузях промисловості [1, 2]. Дотепер відомі сотні різноманітних за хімічною будовою речовин, які синтезуються з проміжних продуктів первинного метаболізму, можуть включатися у подальші перетворення, акумулюватися у міцелії грибів або виділятися у культуральне середовище [3, 4, 5]. Як правило, такі вторинні метаболіти є видоспецифічними. Залежно від умов культивування та складу живильного середовища гриби продукують антибіотики, ферменти, стимулятори росту, вітаміни, поліненасичені жирні кислоти тощо [1, 6, 7, 8]. Муковий гриб *Blakeslea trispora* синтезує терпеноїди, які є вторинними інтермедіатами ацетатного шляху метаболізму. Коензим А – попередник мевалонової кислоти – ключовий проміжний метаболіт у біосинтезі терпенів і стероїдів. Цим шляхом синтезуються пігменти тетратерпенового ряду - каротиноїди. Здатність до синтезу каротиноїдів властива багатьом видам грибів. Надсинтез характерний для базидіоміцетів (роди *Rhodotorula*, *Rhodospiridium*, *Phaffia*, *Cryptococcus*, *Strobilomyces*, *Sterigmatomyces*) та аскоміцетів (порядки *Taphrinales*, *Protomycetales* та ін.) [9]. Найбільш перспективним продуцентом

каротину для отримання його у промислових масштабах є мукоровий гриб *Blakeslea trispora*. У наш час створені нові штами гриба, які відрізняються за якісним і кількісним складом каротиноїдів. Особливістю гриба-продуцента є його здатність синтезувати до 99,8% транс- β -каротину – найбільш активного з усіх каротиноїдів. Технологія отримання каротину на основі гриба *Blakeslea trispora* постійно вдосконалюється, використовуються нові високопродуктивні штами продуцента, більш дешеві напівсинтетичні живильні середовища, специфічні умови культивування [10, 11, 12]. Інтенсивність і спрямованість каротиногенезу та вихід каротину значно варіюють залежно від умов вирощування гриба і складу культурального середовища [13, 14, 15]. На основі біомаси гриба *Blakeslea trispora* за удосконаленою технологією створені біотехнологічні препарати вітатон і вітадепс. Вітатон є сухою біомасою гриба, вітадепс – залишок біомаси після екстракції з неї частини каротину.

У зв'язку з перспективою комплексного використання біомаси гриба *Blakeslea trispora* як джерела каротину та інших БАР та враховуючи велику складність препаратів, що отримують за допомогою мікроорганізмів, виникає необхідність у більш детальному вивченні їх хімічного складу.

МЕТА РОБОТИ

Дослідити ліпідний склад біотехнологічних препаратів вітатону і вітадепсу, які виготовлені на основі біомаси мукорового гриба *Blakeslea trispora*, при культивуванні продуцента на експериментальному напівсинтетичному живильному середовищі: визначити концентрації загальних ліпідів, фосфоліпідів, каротиноїдів, -каротину, ксантофілів.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

У зразках вітатону і вітадепсу визначали загальні ліпіди за Рушковським С. В., фосфоліпіди - за Блюром у модифікації [16]. Каротиноїди з препаратів екстрагували ацетоном, каротин – петролейним ефіром, ксантофіли – етиловим спиртом. Каротин відділяли від інших пігментів методом розподільної хроматографії на колонках з окисом алюмінію. Ксантофіли виділяли з екстракту каротиноїдів методом Вільштеттера. Концентрацію каротиноїдів, каротину, ксантофілів встановлювали фотоелектроколориметричним методом [17]. Результати обробляли статистично [18].

РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Результати досліджень ліпідного складу біотехнологічних препаратів вітатону і вітадепсу виявили, що загальні ліпіди у біомасі гриба *Blakeslea trispora* становлять 61,8% (табл. 1).

Вміст ліпідів у вітадепсі дещо нижче – 53,5 %. Зменшення ліпідної фракції у останньому пов'язане з видаленням частини її у процесі виробництва, але насиченість ліпідами цього препарату залишається досить високою. За даними різних авторів, концентрація ліпідів у клітинах різних видів грибів коливається від 1,0 до 35,0% [9]. Порівняно із середніми показниками для грибів досліджувані препарати містять їх у декілька разів більше. Вміст ліпідів у аналогічних препаратах мікробіологічного каротину, які вивчалися раніше, коливається від 37 до 56 %, що нижче від результатів, отриманих для вітатону [19]. Така розбіжність показника загальної концентрації ліпідів, певно, зумовлена впливом на біосинтетичну активність гриба різних умов культивування, джерел азоту, вуглецю, фізіологічним станом самої культури і, особливо, генетичними властивостями штаму продуцента.

Таблиця 1 - Вміст ліпідів у вітатоні і вітадепсі, г/кг (АСР)

Показник	Вітатон			Вітадепс		
	x ± Sx	відсоток від суми		x ± Sx	відсоток від суми	
		ліпідів	каротиноїдів		ліпідів	каротиноїдів
Ліпіди, всього	618,0±27,7	100,0	-	535,8±6,4	-	100,0
у т.ч. каротиноїди	22,2±0,16	3,6	100,0	12,5±0,11	2,3	100,0
з них каротин	19,8±0,06	3,2	89,2	3,8±0,03	0,7	30,4
ксантофіли	2,1±0,03	0,35	9,5	0,3±0,04	0,1	2,4
ін. каротиноїди	0,3±0,04	0,05	1,3	8,4±0,04	1,6	67,2
Фосфоліпіди	38,8±0,04	6,2	-	26,6±0,60	5,0	-

Особливістю усіх грибів є високий вміст фосфоліпідів [9]. У досліджуваних препаратах фосфоліпіди становлять 6,2 та 5,0% від суми ліпідів. Вміст фосфоліпідів у сухому міцелії гриба *Blakeslea trispora* (вітатон) на 31,5 % вище, ніж у вітадепсі, що пов'язано з переходом частини фосфоліпідів в екстракт у процесі вироблення препарату.

Мукоровий гриб *Blakeslea trispora* здатен до надсинтезу каротину. Останній може накопичуватися у клітинних стінках, жирових глобулах цитоплазмі у складі вільних ліпідів. Штами гриба відрізняються за інтенсивністю синтезу пігменту. Вміст каротиноїдів у міцелії окремих штамів, за різними даними, становить від 4 до 40 г/кг [8, 19]. Концентрація каротиноїдів у досліджуваних зразках препаратів коливається від 3,6 до 2,3 % від суми загальних ліпідів (табл. 1). Вітатон вміщує у середньому 22,2 г/кг каротиноїдів, з них 89,2% припадає на -каротин. За рахунок видалення частини кристалічного каротину з біомаси концентрація каротиноїдів у вітадепсі знижується на 43,7%, але кількість їх залишається досить високою. Частка -каротину зменшується у 5,2 раза і становить 30,4% від суми каротиноїдів.

Крім каротину, ліпідна фракція гриба містить також 0,05% інших каротиноїдів і 0,35% ксантофілів. У вітатоні загальна частка ксантофілів серед суми каротиноїдів становить 9,5%, інших каротиноїдів – менше 1,3 %. У вітадепсі за рахунок виділення частини каротину вміст інших каротиноїдів у складі сумарних ліпідів підвищується до 1,6 %, кількість ксантофілів зменшується до 0,1 %. При виробництві вітадепсу з біомаси гриба екстрагується не лише каротин, але й ксантофіли, кількість яких у сумі каротиноїдів зменшується з 9,5% у вітатоні до 2,4% у вітадепсі. За рахунок цього вміст інших каротиноїдів у пігментній фракції вітадепсу підвищується майже у 28 разів.

Слід відмітити, що результати, які отримано під час дослідження кількості каротину у вітатоні і вітадепсі, узгоджуються з опублікованими у літературі даними з визначення хімічного складу аналогічних препаратів каротину [8, 19].

ВИСНОВКИ

Таким чином, у дослідженнях встановлено, що біотехнологічні препарати вітатон і вітадепс, що отримані на основі біомаси мукорового гриба *Blakeslea trispora*, який культивували на напівсинтетичному живильному середовищі, відрізняються високим вмістом ліпідів, що містять фосфоліпіди, ксантофіли, каротиноїди, 89,2% і 30,4% яких представлені -каротином відповідно.

На відміну від вітатону вітадепс містить меншу кількість ліпідів і фосфоліпідів. Загальний рівень каротиноїдів і концентрація каротину у вітадепсі суттєво нижчі ($P < 0,05$) порівняно з вітатоном, але вміст цих пігментів, зокрема β -каротину, у складі препарату значно перевищує концентрацію його у багатьох традиційних природних джерелах, що дозволяє вважати вітадепс, поряд з вітатоном, повноцінним джерелом каротиноїдів.

Результати досліджень характеризують ліпідний склад мукорового гриба *Blakeslea trispora* і можуть бути використані під час розроблення нових препаратів на основі біомаси цього продуцента.

SUMMARY

LIPID COMPOSITION OF BIOTECHNOLOGICAL PREPARATIONS OF CAROTENE VITATON AND VITADEPS

L. A. Primova,

Medical Institute of Sumy State University, Sumy

Results of researches of lipid composition of the biotechnological preparations of carotene vitaton and vitadeps which are received under cultivation of a producent on experimental semisynthetic nutrient medium are stated in the article.

It was established that vitaton and vitadeps differ in high lipids content, including phospholipids, xanthophylls, carotenoids, 89,2% and 30,4% of which are represented by β -carotene, respectively. It is noted that the proportion of lipids in vitadeps considerably less than in the vitaton, but the amount of carotene in the preparation exceeds ones in other traditional natural sources, which makes vitadeps a good source of this pigment.

Key words: *fungus Blakeslea trispora, vitaton, vitadeps, total lipids, phospholipids, xanthophylls, carotenoids, β -carotene.*

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Стенько А.С. Микроорганизмы – продуценты β -каротину природного происхождения / А.С. Стенько, В.П. Мартиновский, Е.А. Кунщикова, И.С. Кунщикова // Міжнародна конф. “Використання каротиноїдів мікробного походження в агропромисловому комплексі” (Суми, 2-4 жовтня 2002 р.): тези доп. - Суми, 2002. – С.19-21.
2. Kuzina V. Ubiquinone and carotene production in the Mucorales *Blakeslea Phycomyces* / V. Kuzina, E. Cerdá-Olmedo // Appl. Microbiol. Biotechnol. – 2007. – Vol. 76 (5). – P. 991-999.
3. Деев С.В. Синтез и выделение эргостерина при использовании в качестве продуцента гриба *Blakeslea trispora*/ С.В. Деев, И.А. Буторская, П.В. Авчиев // Біотехнологія. - 2000. - №4. - С.22-31.
4. Деев С.В. Выделение убихинонов из биомассы гриба *Blakeslea trispora*/ С.В. Деев, И.А. Буторская, П.В. Авчиев // Біотехнологія. – 2000. – № 5. – С.36-46.
5. Kuzina V. Relationships among the biosyntheses of ubiquinone, carotene, steroids and triacylglycerols in Zygomycetes/ V. Kuzina, C. Domenech, E. Cerdá-Olmedo // Arch. Microbiol. – 2006. – Vol. 186. – P. 485-493.
6. Авчиев М.И. Разработка технологии получения ликопина на основе пары штаммов гриба *Blakeslea trispora* ВСБ – 129 (-) и ВСБ – 130 (+): автореф. дис. ... канд. техн. наук: 05.18.10. – М., 2003. – С.152.
7. Прімова Л.О. Побічний продукт виробництва каротину – вітадепс як джерело біологічно активних речовин/ Л.О. Прімова // Медична хімія. – 2009. – Т. 11, № 3. – С.99-101.
8. Калининвич О.В. Биохимический состав биомассы гриба *Blakeslea trispora* ТНАХТ / Калининвич О.В., Калининвич А.Н., Чиванов В.Д., Киндя В.И. // Природничий альманах. Біологічні науки: збірник наукових праць. – Херсон, 2009. – Вип. 13. – С. 39 – 49.
9. Беккер З.Э. Физиология и биохимия грибов/ З.Э. Беккер. - М.: МГУ, 1988. - 229 с.
10. Анацький А.С. Вплив ступеня аерації культуральної рідини на біосинтетичну активність грибно́ї культури *Blakeslea trispora* / А.С. Анацький, Є.О. Кунщикова // Вісник Дніпропетровського університету. Біологія. Екологія. – 2009. – Вип. 17, Т. 2. – С. 15–19.
11. Böhme K. New insights into mechanisms of growth and beta-carotene production in *Blakeslea trispora* / K. Böhme, C. Richter, R. Pätz // Biotechnol. J. – 2006. – Vol. 1 (10). – P. 1080-1084.

12. Varzakakou M. Autolysis of *Blakeslea trispora* during carotene production from cheese whey in an airlift reactor/ M. Varzakakou, T. Roukas, E. Papaioannou, P. Kotzekidou, M. Liakopoulou-Kyriakides // *Prep. Biochem. Biotechnol.* – 2011. – Vol. 41(1). – P. 7-21.
13. Nanou K. Oxidative stress response and morphological changes of *Blakeslea trispora* induced by butylated hydroxytoluene during carotene production/ K. Nanou, T. Roukas // *Appl. Biochem. Biotechnol.* – 2010. – Vol. 160(8). – P. 2415 – 2423.
14. Choudhari S.M. Use of metabolic stimulators and inhibitors for enhanced production of beta-carotene and lycopene by *Blakeslea trispora* NRRL 2895 and 2896 / S.M. Choudhari, L. Ananthanarayan, R.S. Singhal // *Bioresour. Technol.* – 2008. – Vol. 99(8). – P. 3166 – 3173.
15. Choudhari S. Media optimization for the production of beta-carotene by *Blakeslea trispora*: a statistical approach/ S. Choudhari, R. Singhal // *Bioresour. Technol.* – 2008. – Vol. 99(4). – P. 722 – 730.
16. Клінічна лабораторна діагностика: навчальний посібник / Л.П. Аксененко, З.С. Баркаган, З.П. Гетте та ін.; за ред. М.А. Базарнової, З.П. Гетте. – К.: Вища шк., 1994. – 423 с.
17. Петухова Е.А. Зоотехнический анализ кормов/ Е.А. Петухова, Р.Ф. Бесарабова, Л.Д. Холенева, О.А. Антонова. – М.: Агропромиздат, 1989. – 239 с.
18. Иванов Ю.И. Статистическая обработка результатов медико-биологических исследований на микрокалькуляторах по программам /Ю.И. Иванов, О.Н. Погорелюк.– М.: Медицина, 1990. – 224 с.
19. Бобнева С.М. Биомасса гриба *Blakeslea trispora* - источник каротина, белка и липидов: сб. Использование биомассы микроорганизмов для пищевых целей. – Пушино, 1985. – С.61-72.

Надійшла до редакції 17 листопада 2010 р.