

4. Фуголь, Д. С. Комплаентность к безглютеновой диете у детей при целиакии [Текст] / Д. С. Фуголь, Е. В. Шрайнер, Ю. Ф. Лобанов, Т. Б. Кислова, Т. В. Тропина // Русский медицинский журнал. — 2013. — № 24. — С. 1206–1208.
5. Дробот, В. І. Технологічні аспекти використання борошна круп'яних культур у технології безглютенового хліба [Текст]: темат. зб. наук. пр. / В. І. Дробот, А. М. Грищенко // Обладнання та технології харчових виробництв. — 2013. — Вип. 30. — С. 52–58.
6. Шаніна, О. М. Дослідження впливу трансглютамінази та білкових добавок на вологостримувальну здатність безглютенового борошняного тіста [Текст] / О. М. Шаніна, Н. Л. Лобачова // Вісник Харківського національного технічного університету та сільського господарства ім. Петра Василенка. Сучасні напрямки технології та механізації процесів переробних і харчових виробництв. — 2014. — Вип. 152. — С. 243–250.
7. Дорохович, В. В. Безглютенові борошняні кондитерські вироби [Текст] / В. В. Дорохович, Н. П. Лазоренко // Обладнання та технології харчових виробництв. — 2013. — Вип. 30. — С. 341–347.
8. Шаніна, О. М. Вплив трансглютамінази на газотворювальну та газотримувальну здатність рисового тіста [Текст] / О. М. Шаніна, В. О. Алексенко // Вісник Харківського національного технічного університету та сільського господарства ім. Петра Василенка. Сучасні напрямки технології та механізації процесів переробних і харчових виробництв. — 2014. — Вип. 152. — С. 341–349.
9. Цыганова, Т. Б. Разработка технологии и оптимизации рецептуры безглютенового печенья с использованием дескриптивного анализа [Текст] / Т. Б. Цыганова, Д. В. Шнейдер // Хлебопродукты. — 2012. — № 5. — С. 48–51.
10. Christensen, L. Protein denaturation and water-protein interactions as affected by low temperature long time treatment of porcine Longissimus dorsi [Text] / L. Christensen, H. C. Bertram, M. D. Aaslyng, M. Christensen // Meat Science. — 2011. — Vol. 88, № 4. — P. 718–722. doi:10.1016/j.meatsci.2011.03.002
11. Дробот, В. І. Зміни показників якості безглютенового хліба при зберіганні [Текст] / В. І. Дробот, А. М. Грищенко // Ukrainian Food Journal. — 2013. — Vol. 2, Iss. 3. — P. 347–353.

ВЛИЯНИЕ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИХ ФАКТОРОВ НА СТЕПЕНЬ ПЕНЕТРАЦИИ ХЛЕБОБУЛОЧНЫХ ИЗДЕЛИЙ СПЕЦИАЛЬНОГО НАЗНАЧЕНИЯ

Показана перспективность разработки безглютеновых хлебо-булочных изделий. Исследовано влияние компонентов жидкой

фазы теста и фермента трансглютаминаза на степень пенетрации паровых мелкоштучных хлебобулочных изделий из рисового теста. Экспериментально доказана целесообразность использования кислomолочной сыворотки и фермента трансглютаминаза в рецептуре теста из рисовой муки. Установлен механизм влияния сыворотки и трансглютаминаза на структуру готовых изделий.
Ключевые слова: социальный кейтеринг, рисовое тесто, обработка водяным паром, степень пенетрации, черствение.

Шаніна Ольга Миколаївна, доктор технічних наук, професор, завідувач кафедри технологій переробних і харчових виробництв, Харківський національний технічний університет сільського господарства ім. П. Василенка, Україна.

Жуков Євгеній Вікторович, кандидат технічних наук, кафедра технологій та організації ресторанного бізнесу, Харківський торгово-економічний інститут Київського національного торгово-економічного університету, Харків, Україна, e-mail: qsm@yandex.com.
Нуреева Анна Владленівна, кафедра технологій та організації ресторанного бізнесу, Харківський торгово-економічний інститут Київського національного торгово-економічного університету, Харків, Україна.

Шанина Ольга Николаевна, доктор технических наук, профессор, заведующий кафедрой технологий перерабатывающих и пищевых производств, Харьковский национальный технический университет сельского хозяйства им. П. Василенко, Украина.
Жуков Евгений Викторович, кандидат технических наук, кафедра технологии и организации ресторанного бизнеса, Харьковский торгово-экономический институт Киевского национального торгово-экономического университета, Харьков, Украина.
Нуреева Анна Владленовна, кафедра технологии и организации ресторанного бизнеса, Харьковский торгово-экономический институт Киевского национального торгово-экономического университета, Харьков, Украина.

Shanin Olga, Petro Vasylenko Kharkiv National Technical University of Agriculture, Ukraine.

Zhukov Yevhenii, Kharkiv Institute of Trade and Economics of Kyiv National University of Trade and Economics, Kharkiv, Ukraine, e-mail: qsm@yandex.com.

Nurieieva Anna, Kharkiv Institute of Trade and Economics of Kyiv National University of Trade and Economics, Kharkiv, Ukraine

УДК 663.16+579.222.3

DOI: 10.15587/2312-8372.2016.65470

Поліщук В. Ю.,
Дуган О. М.

ВПЛИВ УМОВ КУЛЬТИВУВАННЯ НА БІОСИНТЕТИЧНУ ЗДАТНІСТЬ *EREMOTHECIUM ASHBYI* GUILLIERM.

Наведено результати досліджень фізіолого-біохімічних особливостей аскоміцету *Eremothecium ashbyi* F-340, який є перспективним об'єктом для отримання рибофлавіну біотехнологічним методом. Встановлено оптимальні значення рН поживного середовища, сприятливі для накопичення біомаси та рибофлавіну *E.ashbyi*. Досліджено вплив інтенсивності перемішування на біосинтетичну здатність штаму-продуценту. Встановлено сприятливі для накопичення біомаси та рибофлавіну джерела вуглецю та азоту. Запропоновано комплексні поживні середовища, що сприяють максимальному біосинтезу рибофлавіну.

Ключові слова: *Eremothecium ashbyi*, продуцент рибофлавіну, глибинне культивування, фізіолого-біохімічні властивості.

1. Вступ

Останнім часом моніторинг вітамінної забезпеченості населення виявляє вкрай недостатнє споживання

вітамінів та ряду мінеральних речовин. Особливо несприятливим є стан з вітамінами С, В₁, В₂, В₆, фолієвою кислотою та каротиноїдами. Недостатнє вживання вітамінів завдає істотної шкоди здоров'ю: знижує

фізичну та розумову працездатність, опір різноманітним захворюванням, підсилює негативний вплив на організм несприятливих екологічних умов та шкідливих факторів виробництва [1].

Одним з найбільш широко розповсюджених вітамінів є рибофлавін. Він міститься у всіх тваринних та рослинних клітинах, проте отримати рекомендовану для вживання норму вітаміну B₂ лише за рахунок продуктів харчування дуже складно, оскільки лише деякі харчові продукти є багатими джерелами даного вітаміну. Рибофлавін є одним з найважливіших ростових факторів людини і тварин. Вітамін B₂ діє як посередник при переносі електронів у різних окислювально-відновних реакціях. Він приймає участь у великій кількості реакцій метаболізму вуглеводів, жирів та білків, а також в реакціях з виробництва енергії в дихальному ланцюзі. Достатня забезпеченість продуктів харчування вітаміном B₂ є важливою передумовою росту тварин та птахів. Його дефіцит призводить до цілої низки захворювань. Рибофлавін можливо синтезувати хімічним шляхом, але останнім часом все більше уваги приділяється біотехнологічному способу отримання вітаміну B₂.

Пошук шляхів збільшення кількості рибофлавіну для потреб людини та тварин є задачею важливою та актуальною. На сьогоднішній день найбільш дешевим способом отримання вітаміну B₂ є мікробний синтез. Актуальним завданням щодо подальшого удосконалення і розвитку технології виробництва рибофлавіну є регулювання та збільшення біосинтетичної здатності продуценту шляхом вдосконалення умов культивування та використання більш ефективних джерел живлення.

2. Аналіз літературних даних та постановка проблеми

Для біотехнологічного виробництва рибофлавіну використовуються організми різних таксономічних груп, в основному, дріжджі та міцеліальні гриби. У флавіногенних дріжджів *Candida famata* [2–4] (використовується американською біотехнологічною фірмою Archer Daniels Midland) та *Pichia guilliermondii* [5] індукція рибофлавіну відбувається при депресії по залізу. Серед міцеліальних грибів активними продуцентами рибофлавіну є аскоміцети *Eremothecium gossypii* (синонім *Ashbya gossypii*) (німецька фірма BASF) [1, 2] та *Eremothecium ashbyi* [6, 7], на біосинтез вітаміну B₂ якими йони заліза не впливають, що є їх важливою перевагою. Крім того у промисловості для виробництва рибофлавіну застосовують генно-інженерні штами бактерії *Bacillus subtilis* [2, 3, 8].

Одним з перспективних об'єктів для отримання рибофлавіну біотехнологічним шляхом є *Eremothecium ashbyi*, який відноситься до групи грибів, що є паразитами рослин [9, 10].

E.ashbyi відноситься до аскоміцетів, що не утворюють плодові тіла, утворює септований міцелій з дихотомічним розгалуженням, який складається з багатоядерних клітин. Міцелій з часом набуває яскраво-жовтого кольору внаслідок накопичення рибофлавіну в такій кількості, що випадає у вигляді кристалів в вакуолях. Спорангії подовжені багатоспорові, утворюються на міцелії інтеркалярно (вставочно по ходу гіфи), містять веретеноподібні спори. Клітини, що брунькуються (конідії), розташовуються латерально або термінально [11, 12].

Інформації щодо особливості глибинного культивування *E.ashbyi* в літературі наведено недостатньо. Найчастіше *E.ashbyi* культивується на середовищах, які у своєму складі, в якості джерел вуглецю, містять моно- та дисахариди (переважно глюкозу та сахарозу), мелясу, гідрол, а в якості джерел азоту — пептон, дріжджовий екстракт або автолізат, кукурудзяний екстракт, соєве борошно. Для збільшення виходу рибофлавіну застосовують різноманітні підходи. В якості джерела азоту запропоновано використовувати деякі недорогі відходи, які не є їстівними — це жмих кунжутного та арахісового насіння після відділення олії [6, 13, 14]. В якості стимуляторів флавіногенезу застосовують додаткові компоненти, наприклад, недорогі органічні відходи — м'ясний екстракт, кров'яне та рибне борошно [6, 7, 13, 14]. Для визначення оптимального рівня поживних компонентів середовища використані статистичні методи, які дають можливість збільшити вихід рибофлавіну при його виробництві [14]. Проте наведені відомості не завжди повні та суперечливі.

3. Об'єкт, мета та задачі дослідження

Об'єкт дослідження — продуцент рибофлавіну *Eremothecium ashbyi* Guilliermond 1935 F-340, отриманий з Всеросійської колекції промислових мікроорганізмів. За сучасними даними, відповідно до міжнародної бази систематики грибів SABI Bioscience та бази даних CBS Database of Fungal Names, даний гриб віднесений до *Eremotheciaceae*, *Saccharomycetales*, *Saccharomycetidae*, *Saccharomycetes*, *Saccharomycotina*, *Ascomycota*, *Fungi* [15].

Практичне втілення біотехнології отримання рибофлавіну потребує розширення фундаментальних знань про фізіолого-біохімічні властивості продуцента. Тому метою дослідження була оцінка біосинтетичної здатності аскоміцету *E.ashbyi* F340 залежно від умов глибинного культивування та підбір компонентів поживних середовищ для створення біотехнології виробництва рибофлавіну.

Для досягнення поставленої мети вирішувалися наступні задачі:

- дослідити вплив початкового рН поживного середовища на рівень продукування рибофлавіну та біомаси штамом *E.ashbyi* F-340;
- визначити вплив інтенсивності перемішування на біосинтетичну здатність продуценту;
- визначити сприятливі джерела вуглецю та азоту для максимального накопичення рибофлавіну та біомаси, а також комплексні поживні середовища, що забезпечать високий вихід цільового продукту.

4. Матеріали та методи досліджень впливу умов культивування та джерел живлення на продуктивність *Eremothecium ashbyi*

Штам гриба *Eremothecium ashbyi* зберігали за кімнатної температури на скошеному агаризованому глюкозо-пептонному середовищі (ГПС) складу (%): дріжджовий екстракт — 0,5; пептон — 0,3; глюкоза — 1,0; агар — 2,0 та на соєвому середовищі складу (%): соєве борошно — 4,0, сахароза — 1,0, агар — 2,0. Робочі культури зберігали в активному стані шляхом систематичного пересіву на тверді поживні середовища та відбору найбільш інтенсивно забарвлених в жовтогарячий колір колоній.

Глибинне культивування на рідких поживних середовищах здійснювали при 28 °С протягом 7 діб у конічних колбах з 50 мл середовища в умовах постійного перемішування на орбітальній качалці зі швидкістю 70 або 180 об/хв. Середовище інокулювалося попередньо отриманою на ГПС фізіологічно активною глибинною культурою в об'ємній кількості 5 %.

Вплив рівня рН на накопичення культурою *E.ashbyi* біомаси та рибофлавіну визначався на глюкозо-пептонному середовищі, у якому за допомогою 0,1 н. NaOH створювався діапазон рН від 4,0 до 8,0 з кроком 0,5. Протягом культивування один раз на добу здійснювався відбір проб культуральної рідини для визначення рівня рН, вмісту біомаси, рівня накопичення рибофлавіну.

Для визначення найсприятливіших для накопичення біомаси та рибофлавіну джерел вуглецю використовували середовище, що містило у своєму складі 0,5 % дріжджового екстракту та 0,3 % пептону, до якого, як єдине джерело вуглецю, у кількості, еквівалентній 10 г/дм³ глюкози за вуглицем, додавали фруктозу, галактозу, ксилу, мальтозу, лактозу, сахарозу, сорбіт, маніт, дульцин, гліцерин, інозит, крохмаль. Визначення сприятливих джерел азоту здійснювали на середовищі наступного складу: глюкоза – 10 г/дм³, K₂HPO₄ – 1 г/дм³, KH₂PO₄ – 1 г/дм³, MgSO₄ · 7H₂O – 0,5 г/дм³, KCl – 0,5 г/дм³, до якого у якості джерела азоту (в еквіваленті 3 г/дм³ NH₄Cl за азотом) додавали: аспарагінову та глютамінову кислоти, метіонін, цистеїн, треонін, аргінін, аспарагін, фенілаланін, аланін, триптофан, хлорид та нітрат амонію, нітрат та нітрит натрію, сечовину, пептон, дріжджовий екстракт (ДЕ).

Для дослідження росту на комплексних середовищах використовували глюкозо-пептонне середовище (ГПС), соєве середовище [16], середовище Городкової [17], неохмелене пивне сусло та м'ясо у концентрації вуглецю, що еквівалентна 10 г/дм³ глюкози, в якості джерела азоту та ростових факторів додавали дріжджовий екстракт (ДЕ) та пептон.

Кількість біомаси визначалася ваговим методом після її відділення від культуральної рідини фільтруванням та висушуванням до сталої маси при 105 °С [17]. Активну кислотність (рН) визначали за допомогою рН-метра 150МА (рН-метр-мілівольметр).

Вміст рибофлавіну в культуральній рідині визначали спектрофотометрично при $\lambda = 450$ нм після попереднього гідролізу ФАД до ФМН протягом 12 годин у 10 % трихлороцтовій кислоті [18, 19].

5. Результати дослідження біосинтетичної здатності *E.ashbyi*

Дослідження впливу кислотності на накопичення біомаси та рибофлавіну для штаму *E.ashbyi* F-340 проводилися на рідкому ГПС при різних початкових значеннях рН.

В процесі культивування штаму спостерігався зсув рН культуральної рідини, який залежав від початкового значення рН середовища. При культивуванні на середовищі, початкове значення рН якого становило 4,0, зміни рН майже не відбувалося. При культивуванні на середовищах, початкове значення рН яких становило 4,5–5,5, спостерігалася поступове зниження рН. При культивуванні на середовищах, початкове значення рН яких становило 6,0–8,0, в період інтенсивного росту

культури (до 3 доби) відбувалося інтенсивне зниження рН до 4,5–5,0, а починаючи з 5 доби (стаціонарна фаза росту та фаза автолізу) рН підвищувалося до 7,0–8,0.

В результаті культивування *E.ashbyi* F-340 на середовищі з різними початковими значеннями рН було встановлено, що більшому виходу біомаси сприяє початковий рівень рН 5,5 та 6,0 (рис. 1). При цих значеннях рН концентрація біомаси на 7 добу культивування становить $5,1 \pm 0,24$ та $5,4 \pm 0,2$ мг/см³ відповідно.

Більшому виходу рибофлавіну сприяє початкове рН 7,5 – кількість рибофлавіну у культуральній рідині на 7 добу культивування становить $45,7 \pm 1,8$ мкг/см³ (рис. 2), що на 30 % більше, ніж при рН 6,5; 7,0 та 8,0, і на 58 % більше, ніж при рН 6, що зазвичай створюється у поживному середовищі при культивуванні.

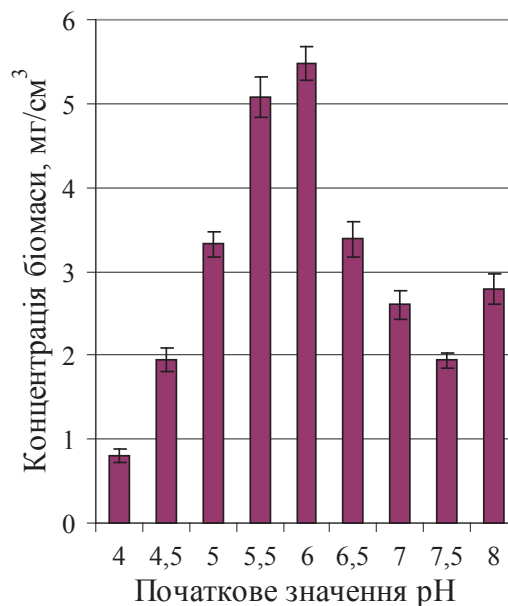


Рис. 1. Накопичення біомаси штамом *E.ashbyi* F-340 при різних початкових значеннях рН

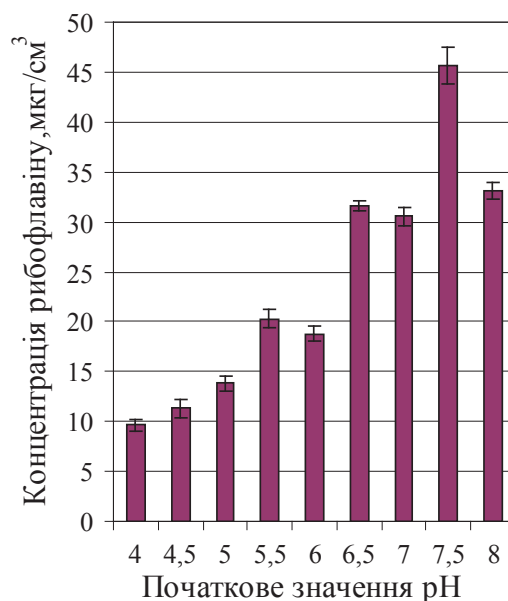


Рис. 2. Біосинтез рибофлавіну штамом *E.ashbyi* F-340 при різних початкових значеннях рН

При дослідженні впливу перемішування на накопичення біомаси та рибофлавіну для штаму *E.ashbyi* на рідкому ГПС на качалках, що здійснювали 70 об/хв та 180 об/хв (рис. 3), встановлено, що максимальна кількість рибофлавіну синтезується при перемішуванні 180 об/хв – $20,51 \pm 1,1$ мкг/см³, що на 70 % більше, ніж при перемішуванні 70 об/хв.

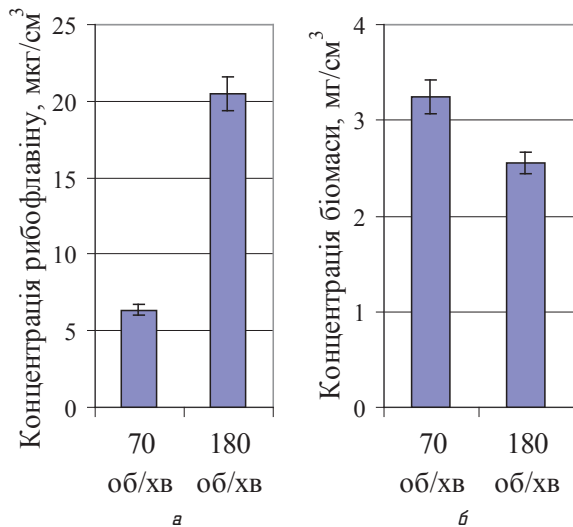


Рис. 3. Накопичення рибофлавіну (а) та біомаси (б) штамом *E.ashbyi* F-340 при різній інтенсивності перемішування

Незначні оберти перемішуючого пристрою сприяють накопиченню біомаси, при цьому рибофлавін синтезується у незначній кількості. Більш інтенсивне перемішування призводить до посилення флавіногенезу.

На наступному етапі досліджувались поживні потреби штаму *E.ashbyi* F-340. Визначено вплив різних джерел вуглецю та азоту на накопичення біомаси та синтез рибофлавіну штамом-продукентом. *Emrethecium ashbyi* здатен утилізувати вуглецеві сполуки різної природи: моносахариди (глюкоза, галактоза, фруктоза, ксилоза), дисахариди (мальтоза, лактоза, сахароза), полісахарид крохмаль, шестиатомні спирти (інозит, сорбіт, маніт), триатомний спирт гліцерин, похідне фенолсечовини дульцин (рис. 4, 5).

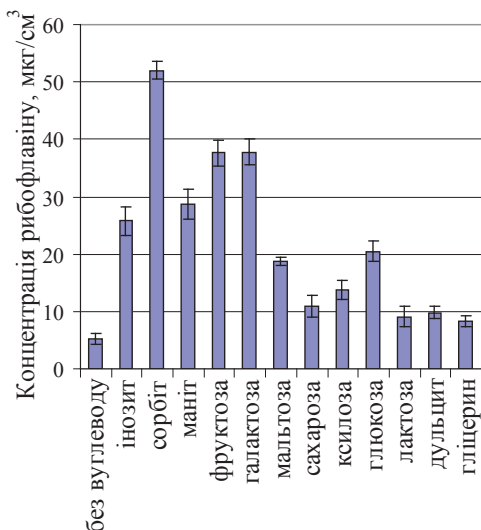


Рис. 4. Біосинтез рибофлавіну штамом *E.ashbyi* F-340 на середовищах з різними джерелами вуглецю

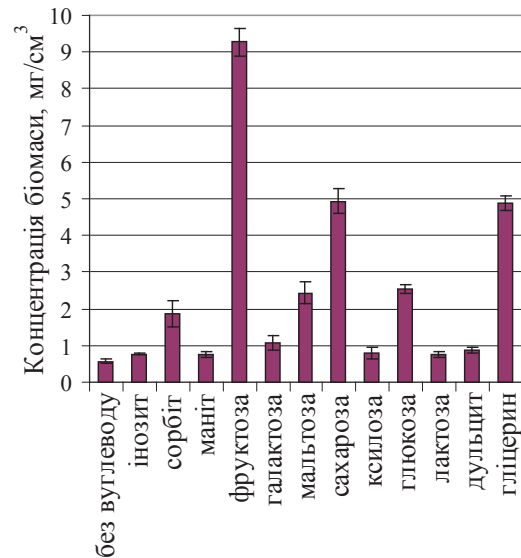


Рис. 5. Накопичення біомаси штамом *E.ashbyi* F-340 на середовищах з різними джерелами вуглецю

Для синтезу рибофлавіну штамом *E.ashbyi* F-340 кращим джерелом вуглецю виявився сорбіт – максимальна концентрація рибофлавіну на середовищі з сорбітом становить $52 \pm 1,56$ мкг/см³, також високі показники продуктивності рибофлавіну показані на середовищі з фруктозою та галактозою. Максимальна кількість міцеліальної біомаси спостерігалася на середовищі з фруктозою – $9,27 \pm 0,37$ мг/см³.

Ріст культури *Emrethecium ashbyi* спостерігався на середовищах, які в якості джерел азоту містили: амінокислоти (аспарагінова, глутамінова, метіонін, цистеїн, треонін, аргінін, аспарагін), неорганічні сполуки (хлорид та нітрат амонію, нітрат та нітрит натрію, сечовина) та органічні джерела азоту (дріжджовий екстракт (ДЕ) та пептон) (рис. 6, 7). Ріст не спостерігався на таких джерелах азоту, як фенолаланін, аланін, триптофан, нітрат та нітрит натрію.

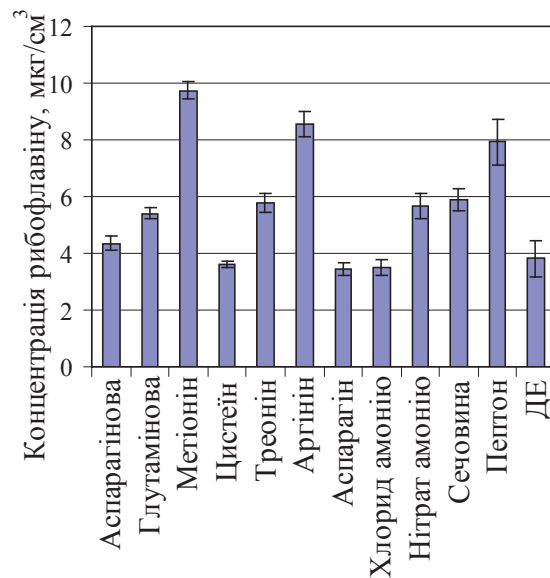


Рис. 6. Біосинтез рибофлавіну штамом *E.ashbyi* F-340 на середовищах з різними джерелами азоту

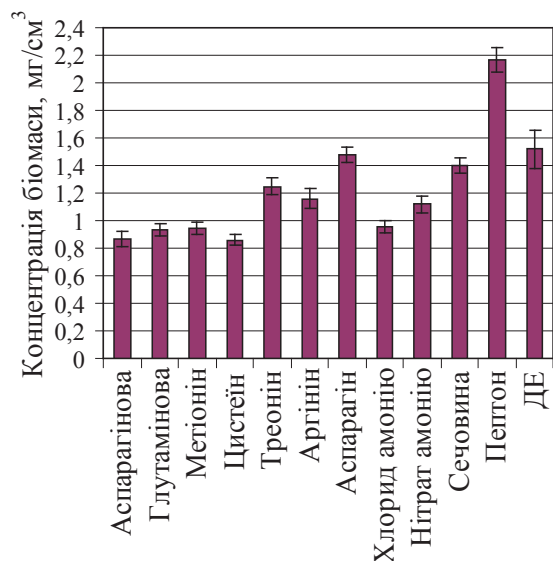


Рис. 7. Накопичення біомаси штамом *E.ashbyi* F-340 на середовищах з різними джерелами азоту

Кращими джерелами азоту для *E.ashbyi* F-340 виявились метіонін та аргінін (рис. 6), концентрація рибофлавіну при цьому становила – $9,74 \pm 0,29$ мкг/см³ та $8,54 \pm 0,25$ мкг/см³ відповідно. Також високі показники продуктивності за рибофлавіном встановлені для пептону. Серед неорганічних джерел азоту найкращі значення показані на середовищі з сечовиною та нітратом амонію – $5,9 \pm 0,39$ та $5,67 \pm 0,17$ мкг/см³ відповідно.

Сприятливими для накопичення міцеліальної біомаси були аспарагін, сечовина та дріжджовий екстракт (рис. 7). Проте найкращим джерелом азоту для накопичення біомаси виявився пептон. Так, біомаса штаму *E.ashbyi* на живильному середовищі з пептоном була в 1,5 рази вища, ніж на середовищі з аспарагіном.

Оскільки комплексні середовища, з одного боку, є більш сприятливими для росту та отримання біологічно активних метаболітів з грибів, ніж синтетичні, а з іншого – є відносно дешевими, то на наступному етапі досліджень визначалися особливості біосинтетичної активності і накопичення біомаси для штаму *E.ashbyi* F-340 на комплексних рідких поживних середовищах (рис. 8 та 9).

При дослідженні накопичення рибофлавіну штамом *E.ashbyi* F-340 на різних поживних середовищах (рис. 8), найкращий результат було отримано на середовищі, що містило у своєму складі сусло. Грибом синтезовано рибофлавіну $77,0 \pm 2,65$ мкг/см³, що у 3,7 рази більше ніж на ГПС та у 2,2 рази більше ніж на соєвому середовищі. Приріст біомаси становить $4,16 \pm 0,17$ мг/см³, що у 1,6 рази більше, ніж на ГПС.

Кількість рибофлавіну, отриманого на соєвому та глюкозо-пептонному середовищі, що найчастіше пропонуються для даного гриба у літературі, становить $34,93 \pm 1,75$ мкг/см³ та $20,51 \pm 0,8$ мкг/см³ відповідно.

Було встановлено, що найбільша кількість біомаси спостерігається на середовищі з м'ясою, збагаченою дріжджовим екстрактом, – $14,19 \pm 0,4$ мг/см³ (рис. 9).

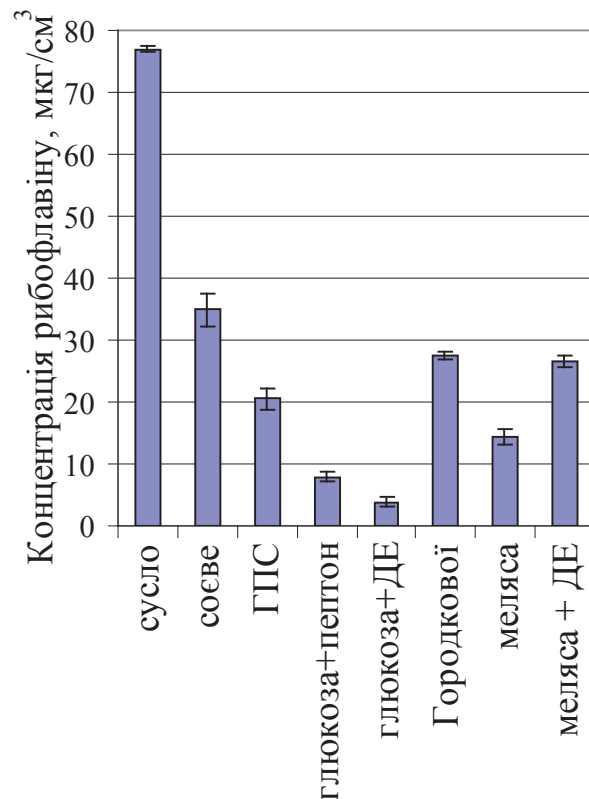


Рис. 8. Біосинтез рибофлавіну штамом *E.ashbyi* F-340 на комплексних поживних середовищах

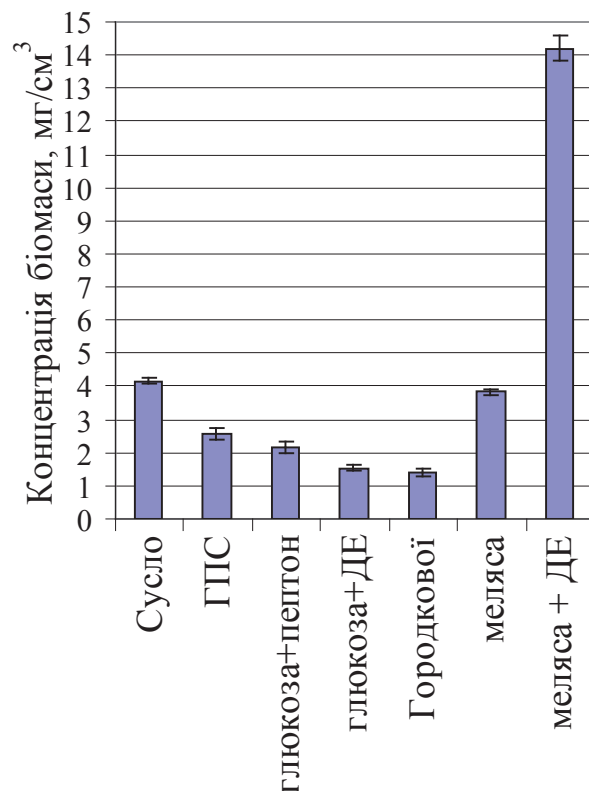


Рис. 9. Накопичення біомаси штамом *E.ashbyi* F-340 на комплексних поживних середовищах

6. Обговорення результатів дослідження впливу параметрів ферментації та компонентів поживних середовищ на продуктивність *E.ashbyi*

Фізико-хімічні умови, до яких відносяться рН та режим перемішування, грають важливу роль в процесі культивування мікроорганізмів. *E.ashbyi* здатний до росту в широкому діапазоні рН від 4,0 до 8,0. Крім того рН середовища культивування є одним із факторів, який впливає на рівень продукування рибофлавіну і біомаси культурою *E.ashbyi*. З рис. 1 та 2 видно, що початковий рівень рН середовищ, призначених для отримання біомаси та рибофлавіну, має бути різним. Для отримання максимальної кількості біомаси, а також посівного матеріалу, доцільно створювати у середовищі рН на рівні 5,5–6,0, а от для максимального накопичення рибофлавіну початковий рН середовища має становити 7,5.

Другим, не менш важливим чинником процесу глибинного культивування мікроорганізмів є перемішування культуральної рідини, що сприяє вирівнюванню концентрації розчинених компонентів поживного середовища, кисню і продуктів метаболізму по всьому об'єму. У результаті оптимізації цього процесу може бути сильно підвищена його продуктивність і знижені енергетичні витрати.

Зниження кількості рибофлавіну при збільшенні кількості біомаси, що спостерігається на рис. 3, пояснюється тісним зв'язком біосинтезу флавінів з обміном пуринів [20]. Активізація ростових процесів, пов'язаних з підсиленням синтезу нуклеїнових кислот призводить до послаблення флавіногенезу.

Правильно підібрані джерела вуглецевого та азотного живлення мають значний вплив на накопичення біомаси, фізіологічну активність культури, а саме характер метаболізму та синтез біологічно активних сполук. Встановлено, що для синтезу рибофлавіну штам-продуцентом краще підходить шестиатомний спирт сорбіт та моносахариди (фруктоза та галактоза), найбільша кількість біомаси утворюється на середовищі з фруктозою (рис. 4, 5).

Інтенсивний біосинтез рибофлавіну відбувається на середовищах, що в якості джерела азоту містять аліфатичні амінокислоти метіонін та аргінін, та пептон. Найвища продуктивність за біомасою показана на пептоні (рис. 6, 7). Позитивний вплив пептону на ріст продуцента зумовлений його комплексним складом, оскільки пептон — це продукт неповного ферментативного гідролізу білків. До його складу входять високо- та низькомолекулярні пептиди і навіть вільні амінокислоти. Крім того, до складу пептону входять ростові речовини, внаслідок чого він становить значний інтерес як джерело азотного живлення.

При дослідженні біосинтетичної здатності штаму *E.ashbyi* на комплексних поживних середовищах, показано найвищий рівень синтезу рибофлавіну на неохмеленому пивному суслі (рис. 8). Основним вуглеводним компонентом сусла є мальтоза, а вона, як відомо, стимулює накопичення культурою *E.ashbyi* у середовищі ФАД [21]. Також сусло у своєму складі містить багато цінних ростових факторів, які позитивно впливають на біосинтетичну здатність гриба.

Отримані результати є частиною роботи з розробки біотехнології виробництва рибофлавіну на ос-

нові *E.ashbyi* F-340, здатного до понадсинтезу даного вітаміну. В подальшому доцільним є оптимізація поживного середовища для культивування штаму-продуценту.

7. Висновки

У результаті проведених досліджень:

1. Встановлено, що кількість рибофлавіну при культивуванні *E.ashbyi* має тенденцію до збільшення зі зростанням рівня початкового рН у поживному середовищі та характеризується максимумом рН 7,5, максимум накопичення біомаси спостерігається при рН 5,5–6,0.

2. Визначено, що збільшення інтенсивності перемішування в процесі глибинного культивування штаму-продуценту з 70 об/хв до 180 об/хв призводить до збільшення рівня накопичення рибофлавіну на 70 %. При цьому приріст біомаси зменшується на 20 %.

3. Показано, що сприятливими для накопичення рибофлавіну культурою *E.ashbyi* як джерела вуглецю є сорбіт, фруктоза та галактоза, а як джерела азоту — метіонін, аргінін та пептон. Біомаса краще накопичується при наявності в середовищі фруктози та пептону. Культивування на комплексних поживних середовищах дало змогу встановити, що найвища біосинтетична здатність за рибофлавіном спостерігалася на середовищі, яке містило у своєму складі сусло, а найбільшу кількість біомаси отримано на мелясі з додаванням дріжджового екстракту. Саме ці компоненти поживних середовищ можуть бути рекомендованими для подальшої оптимізації середовища культивування.

Література

1. Спиричев, В. Б. Теоретические и практические аспекты современной витаминологии [Текст] / В. Б. Спиричев // Український біохімічний журнал. — 2004. — Т. 76, № 4. — С. 32–53.
2. Stahmann, K.-P. Three biotechnical processes using *Ashbya gossypii*, *Candida famata*, or *Bacillus subtilis* compete with chemical riboflavin production [Text] / K.-P. Stahmann, J. L. Revuelta, H. Seulerger // Applied Microbiology and Biotechnology. — 2000. — Vol. 53, № 5. — P. 509–516. doi:10.1007/s002530051649
3. Lim, S. H. Microbial Production of Riboflavin Using Riboflavin Overproducers, *Ashbya gossypii*, *Bacillus subtilis*, and *Candida famata*: An Overview [Text] / S. H. Lim, J. S. Choi, E. Y. Park // Biotechnology and Bioprocess Engineering. — 2001. — Vol. 6, № 2. — P. 75–88. doi:10.1007/bf02931951
4. Дмитрук, К. В. Конструювання надпродуцентів рибофлавіну (вітаміну В₂) дріжджів *Candida famata* [Текст] / К. В. Дмитрук, В. Ю. Ячишин, А. Я. Вороновський, Д. В. Федорович, А. А. Сибірний // Наука та інновації. — 2009. — Т. 5, № 6. — С. 70–74.
5. Шавловский, Г. М. Сверхсинтез флавинов у дрожжей [Текст] / Г. М. Шавловский, Е. М. Логвиненко // Украинский биохимический журнал. — 1985. — Т. 57, № 4. — С. 98–112.
6. Kalingan, A. E. Influence of type and concentration of flavinogenic factors on production of riboflavin by *Eremothecium ashbyii* NRRL 1363 [Text] / A. E. Kalingan, C.-M. Liao // Bioresource Technology. — 2002. — Vol. 82, № 3. — P. 219–224. doi:10.1016/s0960-8524(01)00194-8
7. Kalingan, A. E. Application of agro-industrial by-products for riboflavin production by *Eremothecium ashbyii* NRRL 1363 [Text] / A. E. Kalingan, M. R. V. Krishnan // Applied Microbiology and Biotechnology. — 1997. — Vol. 47, № 3. — P. 226–230. doi:10.1007/s002530050917

8. Wu, Q.-L. Optimization of riboflavin production by recombinant *Bacillus subtilis* RH44 using statistical designs [Text] / Q.-L. Wu, T. Chen, Y. Gan, X. Chen, X.-M. Zhao // *Applied Microbiology and Biotechnology*. — 2007. — Vol. 76, № 4. — P. 783–794. doi:10.1007/s00253-007-1049-y
9. Kimura, S. *Eremothecium ashbyi* causes soybean yeast-spot and is associated with stink bug, *Riptortus clavatus* [Text] / S. Kimura, S. Tokumaru, K. Kuge // *Journal of General Plant Pathology*. — 2008. — Vol. 74, № 4. — P. 275–280. doi:10.1007/s10327-008-0097-1
10. Kimura, S. *Eremothecium coryli* and *E.ashbyi* cause yeast spot of azuki bean [Text] / S. Kimura, S. Tokumaru, K. Kuge // *Journal of General Plant Pathology*. — 2009. — Vol. 75, № 4. — P. 322–324. doi:10.1007/s10327-009-0170-4
11. Семенова, Е. Ф. Культурально-морфологические и физиолого-биохимические особенности видов рода *Eremothecium* S.F.Ashby et W.Nowell [Текст] / Е. Ф. Семенова, А. И. Шпичка, И. Я. Моисеева // *Фундаментальные исследования*. — 2011. — № 6. — С. 210–214.
12. Шпичка, А. И. Цитоморфологическое исследование представителей рода *Eremothecium* [Текст] / А. И. Шпичка, Е. Ф. Семенова, Е. В. Преснякова // *Известия высших учебных заведений. Поволжский регион. Серия «Медицинские науки»*. — 2013. — № 4. — С. 53–59.
13. Kalingan, A. E. The kinetics of riboflavin secretion by *Eremothecium ashbyii* nrrl 1363 [Text] / A. E. Kalingan // *Bioprocess Engineering*. — 1998. — Vol. 18, № 6. — P. 445–449. doi:10.1007/s004490050469
14. Pujari, V. Statistical optimization of medium components for improved synthesis of riboflavin by *Eremothecium ashbyii* [Text] / V. Pujari, T. S. Chandra // *Bioprocess Engineering*. — 2000. — Vol. 23, № 3. — P. 303–307. doi:10.1007/pl00009127
15. Index Fungorum [Electronic resource]. — Available at: \www/URL: <http://www.indexfungorum.org>. — 18.03.2016.
16. Бугорский, П. С. Влияние ионов водорода, калия и натрия на продуктивность гриба *Eremothecium ashbyi* [Текст] / П. С. Бугорский, Е. Ф. Семенова, В. С. Родов // *Микробиологический журнал*. — 1990. — Т. 52, № 3. — С. 44–47.
17. Дудка, И. А. Методы экспериментальной микологии [Текст]: справочник / И. А. Дудка, С. П. Вассер, И. А. Элланская и др. — К.: Наукова думка, 1982. — 562 с.
18. Островский, Ю. М. Экспериментальная витаминология [Текст]: справочное руководство / под ред. Ю. М. Островского. — Минск: Наука и техника, 1979. — 552 с.
19. Шпичка, А. И. К вопросу определения рибофлавина в биотехнологическом сырье [Текст] / А. И. Шпичка, Е. Ф. Семенова, А. В. Кузнецова // *Современные проблемы науки и образования*. — 2011. — № 1. — С. 30–32. doi:10.17513/spno.2011.1
20. Миронов, В. А. Влияние фосфата на рост гриба *Eremothecium ashbyii* и биосинтез флавинов [Текст] / В. А. Миронов, М. И. Цибульская, Л. И. Либер // *Микробиологическая промышленность*. — 1970. — № 1. — С. 33–35.
21. Поморцева, Н. В. Перспективы получения витаминов и коферментов с помощью микроорганизмов (обзор) [Текст] / Н. В. Поморцева // *Химико-фармацевтический журнал*. — 1986. — № 8. — С. 965–974.

ВЛИЯНИЕ УСЛОВИЙ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ НА БИОСИНТЕТИЧЕСКУЮ СПОСОБНОСТЬ *EREMOTHECIUM ASHBYI* GUILLIERM.

Приведены результаты исследований физиолого-биохимических особенностей аскомицета *Eremothecium ashbyi* F-340, который является перспективным объектом для получения рибофлавина биотехнологическим методом. Установлены оптимальные значения рН питательной среды, благоприятные для накопления биомассы и рибофлавина *E.ashbyi*. Исследовано влияние интенсивности перемешивания на биосинтетическую способность штамма-продуцента. Установлены благоприятные для накопления биомассы и рибофлавина источники углерода и азота. Предложены комплексные питательные среды, способствующие максимальному биосинтезу рибофлавина.

Ключевые слова: *Eremothecium ashbyi*, продуцент рибофлавина, глубинное культивирование, физиолого-биохимические свойства.

Полищук Валентина Юрїївна, асистент, кафедра промислової біотехнології, Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут», Україна, e-mail: polischukvu@bigmir.net.

Дуган Олексій Мартем'янович, доктор біологічних наук, професор, кафедра промислової біотехнології, Національний технічний університет України «Київський політехнічний інститут», Україна.

Полищук Валентина Юрьевна, ассистент, кафедра промышленной биотехнологии, Национальный технический университет Украины «Киевский политехнический институт», Украина.

Дуган Алексей Мартемьянович, доктор биологических наук, профессор, кафедра промышленной биотехнологии, Национальный технический университет Украины «Киевский политехнический институт», Украина.

Polishchuk Valentyna, National Technical University of Ukraine «Kyiv Polytechnic Institute», Ukraine, e-mail: polischukvu@bigmir.net.

Dugan Olexiy, National Technical University of Ukraine «Kyiv Polytechnic Institute», Ukraine