

Биотехнология, бионанотехнология и технология сахаристых продуктов

УДК 637.127

DOI: <http://dx.doi.org/10.20914/2310-1202-2016-1-182-185>

Профессор О.С. Корнеева, доцент Е.А. Мотина,
доцент С.Ф. Яковлева

(Воронеж. гос. ун-т инж. техн.) кафедра биохимии и биотехнологии.

тел. (473) 255-55-57

E-mail: emotina18@mail.ru

доцент А.Н. Яковлев

(Воронеж. гос. ун-т инж. технол.) кафедра технологии броидильных и сахарных производств.

тел. (473) 255-55-57

E-mail: svetlana.yakovleva.68@mail.ru

Professor O.S. Korneeva, associate professor E.A. Motina,
associate professor S.F. Yakovleva

(Voronezh state university of engineering technologies) Department of biochemistry and biotechnology.

phone (473) 255-55-57

E-mail: emotina18@mail.ru

associate professor A.N. Yakovlev

(Voronezh state university of engineering technologies) Department of technology and fermenting

sugar production. phone (473) 255-55-57

E-mail: svetlana.yakovleva.68@mail.ru

Влияние условий культивирования на рост биомассы *Yarrowia lipolytica* – продуцента кормового белка

Effect of culture conditions on the growth of biomass *Yarrowia lipolytica* - producing protein feed

Реферат. Кормовые дрожжи представляют собой высокоценный белково-витаминный продукт. Белки дрожжей по степени усвояемости и содержанию аминокислот, превосходят белки животного происхождения. Они усваиваются в организме животных на 95 %. Кроме того, дрожжевые клетки содержат большое количество витаминов и микроэлементов, а так же значительное количество жира. В настоящее время кормовые дрожжи с большим успехом используются в животноводстве и птицеводстве в качестве кормовой добавки, поэтому потребность в них ежегодно возрастает. Для производства кормовых дрожжей используются дрожжи, которые обладают необходимыми технологическими свойствами: способностью быстро развиваться в аэробных условиях с образованием белка, витаминов аминокислот, устойчивостью производственных культур, сопротивляемостью развитию посторонней микрофлоры. Интенсивному образованию дрожжевой биомассы способствует ряд условий, среди которых величина pH, температура культивирования и аэрация процесса занимают важное место. Основным критерием при сравнении и отборе той или иной культуры для данной среды является скорость её роста и способность ассимилировать все питательные вещества с высоким экономическим коэффициентом. От этого зависит производительность предприятия, расход электроэнергии и другие технико-экономические показатели производства. Изучено влияние pH среды на накопление биомассы дрожжей *Yarrowia lipolytica*. Установлено, что при pH 5,2-5,5 наблюдается максимальная скорость роста дрожжевых клеток. Изучено влияние температуры на накопление дрожжевой биомассы. Температура культуральной среды определяет интенсивность обмена веществ в клетках. Установлено, что оптимальной температурой роста культуры *Yarrowia lipolytica* является 33 °C. Изучено влияние степени аэрации на скорость роста дрожжевых клеток. Установлено, что максимальный прирост биомассы был получен при степени аэрации 70 см³/см³ч.

© Корнеева О.С., Мотина Е.А.,
Яковлева С.Ф., Яковлев А.Н., 2016

Для цитирования
Корнеева О.С., Мотина Е.А., Яковлева С.Ф., Яковлев А.Н. Влияние условий культивирования на рост биомассы *Yarrowia lipolytica* – продуцента кормового белка // Вестник Воронежского государственного университета инженерных технологий. 2016. №1. С. 182-185. doi:10.20914/2310-1202-2016-1-182-185.

For cite
Korneeva O.S., Motina E.A., Yakovleva S.F., Yakovlev A.N. Effect of culture conditions on the growth of biomass *Yarrowia lipolytica* - producing protein feed. *Vestnik voronezhskogo gosudarstvennogo universiteta inzhenernyh tekhnologij* [Proceedings of the Voronezh state university of engineering technologies]. 2016, no. 1, pp. 182-185. (In Russ.). doi: 10.20914/ 2310-1202-2016-1-182-185.

Summary. Fodder yeast is highly valuable protein-vitamin products. Protein digestibility by yeast and amino acid content, superior proteins of animal origin. Fodder yeast protein digested in animals by 95 %. The biological value of yeast protein is determined by the presence of a significant amount of essential amino acids. Moreover, yeast cells contain many vitamins microelement and a significant amount of fat, in which the predominant unsaturated fatty acid. Currently, fodder yeast successfully used in live-stock and poultry, so the demand for them is increasing every year. For the production of fodder yeast using a yeast having the necessary technological properties: the ability of rapid growth in aerobic conditions to form protein, amino acids and vitamins, resistant crop production, the development of resistance to foreign microorganisms. Intensive education yeast biomass contributes to a number of conditions, including pH, temperature and aeration of the culture occupy an important place. The main criterion for comparison and selection of a culture medium for this is the speed of its growth and ability to assimilate all of the nutrients with high economic factor. It depends on the performance of the enterprise, energy consumption and other technical - economic performance. The effect of pH of the medium on the biomass accumulation of yeast *Yarrowia lipolytica*. Found that at pH 5,2 - 5,5 observed maximum growth rate of the yeast cells. The effect of temperature on the accumulation of yeast biomass. The temperature of the culture medium determines the intensity of metabolism in cells. It was found that the optimal growth temperature of the culture *Yarrowia lipolytica* is 33 °C. The effect of aeration on the growth rate of yeast cells. Tro-established that the maximum increase of biomass was obtained with the aeration of 70 cm³ /cm³hrs.

Ключевые слова: кормовые дрожжи, биомасса, культивирование, *Yarrowia lipolytica*, величина pH, температура культивирования.

Keywords: fodder yeast, biomass, culturing, *Yarrowia lipolytica*, pH, culturing temperature.

Кормовые дрожжи представляют собой высокоценный белково-витаминный продукт. Белки дрожжей усваиваются в организме животных на 95%. С биологической точки зрения они являются полноценными. По содержанию незаменимых аминокислот белки дрожжей близки к животным белкам. Кроме того, дрожжевые клетки содержат большое количество витаминов и микроэлементов, жиров.

В настоящее время кормовой белок широко используется в различных отраслях животноводства в качестве полноценной пищевой добавки, поэтому потребность в них ежегодно возрастает. Для производства кормового белка должны использоваться дрожжи, которые отвечают требуемым технологическим параметрам: способностью быстро развиваться в аэробных условиях с образованием белка, витаминов аминокислот, устойчивостью производственных культур, сопротивляемостью развитию посторонней микрофлоры [4].

Важнейшим критерием при выборе культуры дрожжей для получения кормового белка является скорость её роста и способность ассимилировать все питательные вещества среды с высоким экономическим коэффициентом. От этого критерия зависят все технико-экономические показатели производства [2].

В качестве продуцента кормового белка была выбрана культура дрожжей *Yarrowia lipolytica*. С технологической точки зрения эти дрожжи являются наиболее перспективными продуцентами кормового белка [5].

Культивирование дрожжевой культуры *Yarrowia lipolytica* проводили глубинным способом на питательной среде, приготовленной на основе меласной барды с начальным содержанием сахара 4 % в колбах Эрленмейера вместимостью 750 мл (объем среды 100 мл) на термостатируемой качалке в течение 48 часов.

При проведении исследований по культивированию дрожжей продуктивность культуры оценивали по накоплению дрожжевой биомассы. Морфологическую картину дрожжей в процессе развития исследовали методом микроскопии [1].

Интенсивному образованию дрожжевой биомассы способствует ряд условий, среди которых величина pH, температура культивирования и аэрация процесса занимают важное место [6].

Величина pH влияет на скорость поступления в клетку питательных веществ, активность ферментов, синтез белка, синтез витаминов в микробной клетке [3].

Проводили исследование влияния pH среды на накопление биомассы дрожжей *Yarrowia lipolytica*. Исследование показало, что данный продуцент проявляет способность к росту в диапазоне значений величины pH от 3,0 до 6,5. При изменении значения pH от 3,0 до 5,5 количество дрожжевых клеток увеличилось от 100 до 380 на см³. Было установлено, что максимальный рост биомассы наблюдался при pH 5,2-5,5. При дальнейшем изменении величины pH в щелочную сторону приостанавливается рост дрожжевых клеток (рисунок 1).

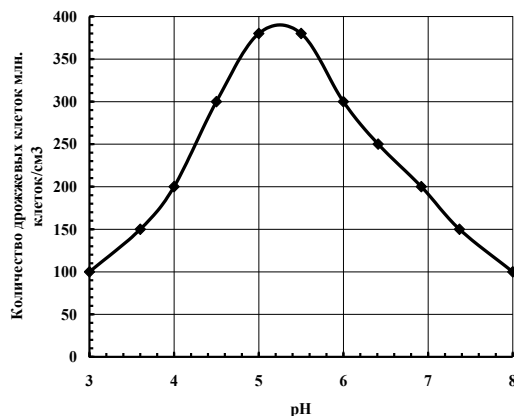


Рисунок 1. Влияние значения pH на рост биомассы *Yarrowia lipolytica* Y-1711

Таким образом, отклонение величины pH питательной среды от оптимальных для роста клеток значений как в кислую, так и в щелочную сторону влечет за собой снижение скорости накопления биомассы *Yarrowia lipolytica* Y-1711.

Температура оказывает большое влияние на накопление биомассы при выращивании различных микроорганизмов. Она определяет интенсивность протекания обмена веществ в клетках.

Проведено исследование влияния температуры на биосинтез *Yarrowia lipolytica* Y-1711. Культивирование проводили при начальном значении активной кислотности питательной среды, равном 5,2-5,5. Варьирование температурными условиями культивирования при установленном оптимальном значении активной кислотности среды показало, что наибольший прирост биомассы для *Yarrowia lipolytica* Y-1711 наблюдается при температуре 33 °C (рисунок 2).

Вероятно, эта температура является оптимальной для роста данной культуры дрожжей.

Снижение температуры культивирования до 25 °C и повышение температуры до 40 °C приводит к снижению активности размножения дрожжевых клеток. При повышении температуры выше 40 °C рост культуры отсутствовал. Температура 33 °C обеспечивала наибольшее накопление биомассы в культуральной жидкости.

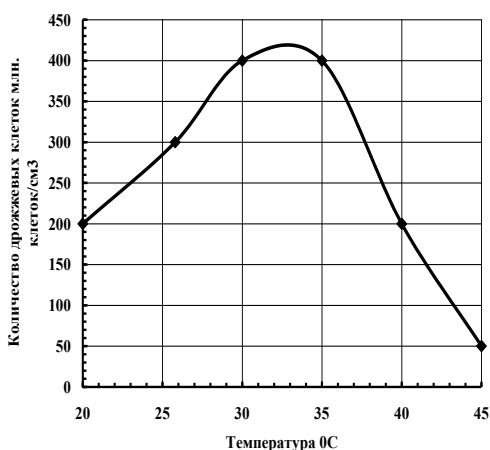


Рисунок 2. Влияние температуры культивирования на рост биомассы *Yarrowia lipolytica* Y-1711

В процессе роста дрожжевые клетки непрерывно потребляют растворенный в культуральной среде кислород, который необходим для синтеза биомассы. Поэтому снабжение кислородом среды значительно влияет на

скорость роста дрожжевой культуры и накопление биомассы. При недостатке кислорода в среде наблюдается снижение скорости роста культуры дрожжей, так как наряду с процессом дыхания происходит процесс брожения, и часть углеродсодержащего вещества расходуется не на накопление биомассы, а на образование спирта. Избыточная аэрация так же не дает положительных результатов. Необходимо обеспечить клетку таким количеством кислорода, которое необходимо для построения биомассы. Количество вносимого в среду кислорода зависит от возраста клеток, условий формирования их дыхательной системы и энергетических материалов [4].

Аэробные условия культивирования создавали, помещая колбы на круговую качалку со скоростью 220 мин⁻¹. Интенсивность аэрации культивирования *Yarrowia lipolytica* варьировали изменением объема питательной среды и воздуха в качалочных колбах вместимостью 750 см³.

При анализе накопления биомассы дрожжей было установлено, что максимальный прирост биомассы был получен при соотношении 0,7 объема воздуха на 1 объем среды, что соответствует степени аэрации 70 см³/см³ч (рисунок 3).

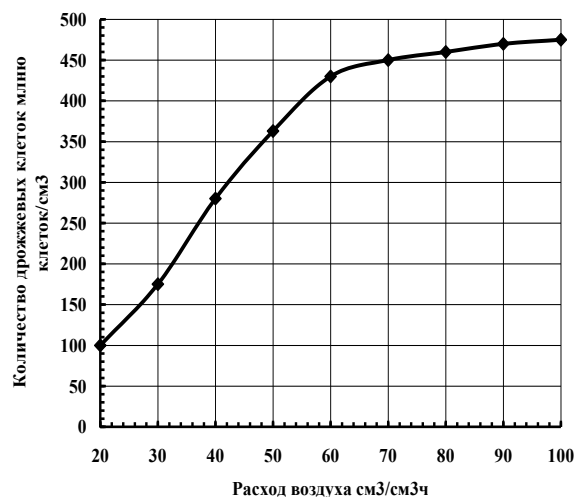


Рисунок 3. Влияние степени аэрации на рост биомассы *Yarrowia lipolytica* Y-1711, см³

Дальнейшее увеличение степени аэрации к существенному росту дрожжей не приводило. Таким образом, оптимальной степенью аэрации при глубинном культивировании культуры *Yarrowia lipolytica* является 70 см³/см³ч.

ЛИТЕРАТУРА

1 Гусева М.А., Эпова Е.Ю., Ковалева Л.И., Шевелев А.Б. Изучение механизмов адаптации дрожжей *Yarrowia lipolytica* к росту при щелочных условиях методами протеомики // Прикл. биох. микробиол. 2010. Т. 46. № 3. С. 336-341.

2 Константиновская М.А.. Выбор условий предобработки отхода производства костной муки для культивирования *Yarrowia lipolytica* // Успехи в химии и химической технологии. 2013. Т. XXVII. №8. С. 120- 124.

3 Яковлева С.Ф., Мотина Е.А., Ковалева Т.С., Тертычная Т.Н. Культивирование продуцентов кормового белка на основе послеспиртовой барды // Производство и безопасность сельскохозяйственной продукции: менеджмент качества и безопасности: материалы III Международной научно-практической конференции 2015 года, Воронеж. Ч. I. С. 55.

4 Яковлева С.Ф., Мотина Е.А., Матвиенко Н.А. Оптимизация питательной среды на основе меласной барды для культивирования *Yarrowia lipolytica* – продуцента кормового белка // Материалы LIII отчетной научной конференции преподавателей и научных сотрудников ВГУИТ за 2014 год, посвященной 85-летию, Воронеж. 2015. Ч.1. С.154.

5 Glick B., Pasternak J.. Molecular Biotechnology. Principles and Applications. M.: Mir, 2010. 585 p.

6 Passetto B.V. Basic processes of chemical synthesis of biologically active substances. GE-OTAR-MED, 2012. 376 p.

EFERENCES

1 Gusev M.A., Epova E.Y., Kovalev L.I., Shevelev A.B. The study of the mechanisms of adaptation of yeast *Yarrowia lipolytica* to growth that under basic conditions the methods of proteomics. *Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya* [Applied. Biochem. microbiology]. 2010, vol. 46, no. 3, pp. 336-341. (In Russ.)

2 Konstantinovskaya M.A. Select, waste pre-treatment bone meal production for the cultivation of *Yarrowia lipolytica*. *Uspekhi v khimii* [Advances in chemistry and chemical technology], 2013, vol. XXVII, no. 8, pp. 120- 124. (In Russ.)

3 Yakovleva S.F., Motina E.A., Kovalev T.S. Cultivation of producing feed protein-based DDGS. *Proizvodstvo i bezopasnost' sel'skokhpzyaistvennoi produktsii* [Production and safety of agricultural products: quality management and safety: materials III International scientific-practical conference 2015, Voronezh]. 2015, part I, pp. 55. (In Russ.)

4 Yakovleva S.F., Motina E.A., Matvienko N.A. Optimization of feed environment based on molasses stillage culturing *Yarrowia lipolytica* - producing fodder protein. *Materialy LIII otchetnoi nauchnoi konferentsii VGUIT* [Materials of LIII accounting conference teachers and researchers VGUIT of 2014, 85th anniversary, Voronezh]. 2015, part 1, pp. 154. (In Russ.)

5 Glick B., Pasternak J.. Molecular Biotechnology. Principles and Applications. M.: Mir, 2010. 585 p.

6 Passetto B.V. Basic processes of chemical synthesis of biologically active substances. GE-OTAR-MED, 2012. 376 p.