

ЧАСТНАЯ ЗООТЕХНИЯ, КОРМЛЕНИЕ, ТЕХНОЛОГИИ ПРИГОТОВЛЕНИЯ КОРМОВ И ПРОИЗВОДСТВА ПРОДУКЦИИ ЖИВОТНОВОДСТВА / PRIVATE ANIMAL HUSBANDRY, FEEDING, FEED PREPARATION TECHNOLOGIES AND PRODUCTION OF LIVESTOCK PRODUCTS

DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2024.147.16>

МОДЕЛИРОВАНИЕ ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ ДЛЯ МАКСИМАЛЬНОГО НАКОПЛЕНИЯ БИОМАССЫ ДРОЖЖЕЙ РОДА *RHODOTORULA*

Научная статья

Волкова С.В.^{1,*}, Белокурова Е.С.², Телух Д.И.³

^{1,2,3} Санкт-Петербургский Политехнический университет Петра Великого, Санкт-Петербург, Российская Федерация

* Корреспондирующий автор (apple_sophia[at]mail.ru)

Аннотация

Кормопроизводство в России активно развивается и переходит на импортозамещающую политику. Поэтому многие предприятия нуждаются в качественном сырье для производства комбикормов и премиксов для рыбных хозяйств. Одним из ключевых компонентов кормов являются каротиноиды, которые улучшают здоровье рыб и органолептические показатели продуктов рыбного промысла. Дрожжи – эффективные продуценты каротиноидов, которые содержат в себе много белка и способны накапливать в процессе метаболизма биологически активные вещества. На каротиногенез дрожжевой клетки большое влияние оказывает химический состав питательной среды и условия культивирования. Моделированием питательной среды и созданием определенных условий при культивировании можно добиться максимального накопления биомассы и целевого продукта дрожжами.

Ключевые слова: дрожжи, кормопроизводство, каротиноиды, *Rhodotorula rubra*, *Rhodotorula roseum*.

MODELLING OF NUTRIENT MEDIUM FOR MAXIMUM BIOMASS ACCUMULATION OF YEASTS OF THE GENUS *RHODOTORULA*

Research article

Volkova S.V.^{1,*}, Belokurova Y.S.², Telukh D.I.³

^{1,2,3} Peter the Great St.Petersburg Polytechnic University, Saint-Petersburg, Russian Federation

* Corresponding author (apple_sophia[at]mail.ru)

Abstract

Fodder production in Russia is actively developing and shifting to an import-substitution policy. Therefore, many enterprises need high-quality raw materials for the production of compound fodders and premixes for fish farms. One of the key components of fodder is carotenoids, which improve fish health and organoleptic indicators of fishery products. Yeasts are efficient carotenoid producers, which contain a lot of protein and are able to accumulate biologically active substances in the process of metabolism. Carotinogenesis of yeast cell is greatly influenced by the chemical composition of nutrient medium and cultivation conditions. By modelling the nutrient medium and creating certain conditions during cultivation, it is possible to achieve maximum accumulation of biomass and target product by yeast.

Keywords: yeast, fodder production, carotenoids, *Rhodotorula rubra*, *Rhodotorula roseum*.

Введение

Кормопроизводство в Российской Федерации последние пять лет активно развивается и переходит от импорта кормов для рыб к отечественному производству [4], [8]. Комбикорма и премиксы, используемые в рыбных хозяйствах, должны иметь определенный состав, чтобы популяция животных росла и развивалась без болезней и патологий. Состав кормов оказывает существенное влияние на здоровье рыб – при потреблении недостаточного количества микро и макроэлементов, витаминов и минералов, страдает репродуктивная система животных, ухудшаются качества получаемого мяса и икры [7]. Основой кормов для рыб служат легкоусвояемые белки, которые необходимы для развития мышечной ткани, также корма должны содержать липиды и витамины, необходимые для здорового метаболизма.

В качестве белковой составляющей многие производители используют рыбную муку, полученную путем переработки отходов рыбного производства. Протеин из данного сырья не всегда отвечает требованиям по безопасности кормов и премиксов, так как для производства рыбной муки используются промышленные мелкие морские рыбы, в организме которых часто встречаются различные токсины [9]. В связи с этим у производителей кормов возникает потребность в источнике белков, который будет соответствовать предъявляемым требованиям. Дрожжи являются перспективным источником белка за счет их быстрой скорости роста и накопления биомассы. Клетка дрожжей содержит до 50% (в сухом веществе) протеинов, состоящих из незаменимых аминокислот, которые лучше и успешнее усваиваются рыбами, чем рыбная мука или растительный белок [6]. Дрожжевые базидиомицеты растут на простых питательных средах и не требуют особых условий культивирования. Некоторые представители микроскопических грибов также способны продуцировать биологически активные вещества – каротиноиды, витамины.

Каротиноиды – пигменты от оранжевого до красного цвета, синтезируемые многими высшими растениями, водорослями и микроскопическими грибами. Соединения, которые относятся к группе каротиноидов (β -каротин, ликопин, астаксантин, зеаксантин и др.) можно добавлять в корма, и они положительно влияют на насыщенность

окраски мышечной ткани рыб и цвет икры [2]. Антиоксидантные свойства каротиноидов благоприятно влияют на здоровье рыб, предотвращая развитие рака и других заболеваний. Они также увеличивают стрессоустойчивость рыб и их сопротивление негативным факторам окружающей среды. При добавлении каротиноидов в состав комбикормов было также замечено их влияние на сроки хранения продукции. Каротиноиды препятствуют окислению липидов в процессе хранения и прогорканию сухих веществ, что также выгодно для рыбных хозяйств, которые закупают большие объемы и долго их хранят [5].

Среди всех продуцентов каротиноидов больше преимуществ имеют красные дрожжи. Род дрожжей *Rhodotorula* показывает высокую эффективность, и они способны синтезировать большое количество каротиноидов в процессе метаболизма. Микроводоросли уступают дрожжам, так как при их выращивании требуется строгое соблюдение условий культивирования, чтобы не было заражения простейшими, и более сложный состав питательной среды. Клетки микроводорослей также очень плотные, что препятствует извлечению каротиноидов и делает процесс очистки более трудоемким и требующим дополнительных затрат [1]. Биомасса дрожжей эффективно выращивается на отходах пищевой промышленности и устойчива к изменениям окружающей среды, что делает ее технологичным продуцентом. Изменяя условия культивирования дрожжей, можно добиться продуцирования каротиноидов определенного химического состава. С помощью облучения биомассы разными длинами волн света наблюдается изменение количественного выхода каротиноидов [10].

Питательная среда для выращивания дрожжей оказывает существенное влияние на количество продуцируемых каротиноидов и их качественный состав. В зависимости от физико-химического состава субстрата, накопление каротиноидов в одном штамме различно. Моделирование питательной среды с помощью обогатителей или составление собственной рецептуры позволяет контролировать синтез каротиноидов и добиться максимального выхода целевого продукта [3].

Цель данного исследования – исследование влияния состава питательной среды на накопление биомассы дрожжами рода *Rhodotorula*.

Условия, материалы и методы проведения исследований

Для проведения исследований нами были выбраны штаммы *Rhodotorula rubra* и *Rhodotorula roseum*. Пробы культуры музейными культурами дрожжей *Rhodotorula* получены из Всероссийской коллекции культур сельскохозяйственного назначения ФГБНУ «Всероссийский научно-исследовательский институт сельскохозяйственной микробиологии».

На начальном этапе исследования оба вида дрожжей выращивали на универсальной плотной питательной среде ГМФ-агар в чашках Петри при 28–30 °С. Выращенные колонии дрожжей были насыщенного оранжевого цвета, что свидетельствовало о наличии большого количества пигментов.

На следующем этапе исследования необходимо было накопить биомассу, поэтому дальнейшее культивирование дрожжей проводили на жидких питательных средах в лабораторных ферментерах в лаборатории микробиологии высшей школы биотехнологии и пищевых производств СПбПУ.

Анализ литературных источников показал, что для выращивания дрожжей больше всего подходят питательные среды, содержащие легкоусвояемые источники углеводов и азотистых питательных веществ и минеральные соли, поэтому в качестве основы для модельных сред были взяты углеводы. Картофельный отвар в одном варианте среды был выбран в качестве дешевого и легкодоступного источника полисахарида крахмала. Контролем служила универсальная питательная среда ГМФ, на которой хорошо растут все микроорганизмы.

После анализа литературных источников были выбраны три варианта питательных сред для культивирования каротиноидных дрожжей:

Вариант 1 – универсальная питательная среда ГМФ (см. табл. 1).

Таблица 1 - Состав питательной среды (вариант 1)

DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2024.147.16.1>

| Компонент среды | Концентрация компонента (г/л) |
|-----------------|-------------------------------|
| ГМФ–основа | 15,0 |
| Натрия хлорид | 9,0 |

Вариант 2 – питательная среда на основе картофельного отвара (см. табл. 2).

Таблица 2 - Состав питательной среды (вариант 2)

DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2024.147.16.2>

| Компонент среды | Концентрация компонента |
|--------------------|-------------------------|
| Картофельный отвар | 1 л |
| Глюкоза | 20 г/л |

Для приготовления питательной среды брали 300 г картофеля и варили в 1 литре воды до готовности, после чего брали готовый картофельный концентрат и доводили дистиллированной водой до 1 л. Затем в картофельный отвар добавляли 20 г/л глюкозы микробиологического и стерилизовали среду в течение 20 мин при температуре 125 °С.

Вариант 3 – полусинтетическая питательная среда на основе маннита, дрожжевого экстракта и солей (см. табл. 3).

Таблица 3 - Состав питательной среды (вариант 3)

DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2024.147.16.3>

| Компонент среды | Концентрация компонента (г/л) |
|--------------------------------------|-------------------------------|
| Маннит | 10,0 |
| Дрожжевой экстракт | 1,0 |
| K ₂ HPO ₄ | 0,5 |
| MgSO ₄ *7H ₂ O | 0,2 |
| NaCl | 0,1 |

При проведении исследований выращивание дрожжей проводили в лабораторных условиях в ферментерах объемом 0,5 л. В каждый вариант с питательной средой вносилась чистая культура дрожжей *Rhodotorula rubra* и *Rhodotorula roseum* в стерильных условиях.

По окончании процесса культивирования на жидких питательных средах определяли титр выращенных микроорганизмов и суммарное количество каротиноидов.

Суммарное содержание каротиноидов определяли спектрофотометрическим методом в кювете, имеющей толщину слоя 1 см, длина волны 450 нм. В качестве раствора сравнения использовали этиловый спирт.

Расчет количественного суммарного содержания каротиноидов в мкг/г (X) (в пересчете на β-каротин), проводили по формуле:

$$x = \frac{D \cdot 100 \cdot 100 \cdot 10}{a \cdot 2500},$$

где:

D – оптическая плотность раствора испытуемого образца;

a – навеска в граммах;

100 – разведение в миллилитрах;

2500 – E экстинкция (показатель поглощения удельный β-каротина в спирте при длине волны 450 нм);

10 – содержание β-каротина в 1 мл 1 % раствора в спирте в миллиграммах.

Результаты и их обсуждение

3.1. Результаты посевов культуры *Rhodotorula rubra*

Титр дрожжей *Rhodotorula rubra* на трех вариантах сред представлен на рисунке 1.

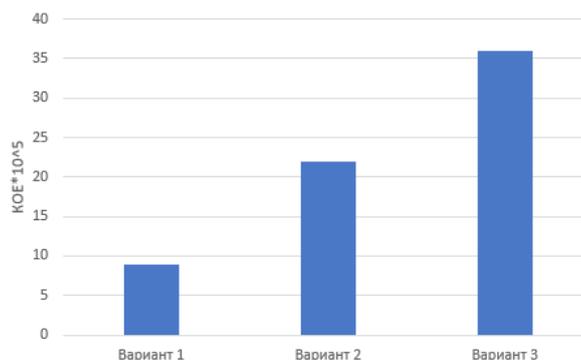


Рисунок 1 - Титр культуры *Rhodotorula rubra* к моменту окончания процесса культивирования 1, 2, 3

DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2024.147.16.4>

Согласно полученным данным, титр культуры достигает максимума в варианте среды 3 (36 КОЕ*10⁵). Наименьший показатель роста дрожжей наблюдается при культивировании на твердой питательной среде 1 (9 КОЕ*10⁵). Таким образом, наилучшей средой для культивации *Rhodotorula rubra* является вариант среды 3.

3.2. Результаты посевов культуры *Rhodotorula roseum*

Титр дрожжей *Rhodotorula roseum* на трех вариантах сред представлен на рисунке 2.

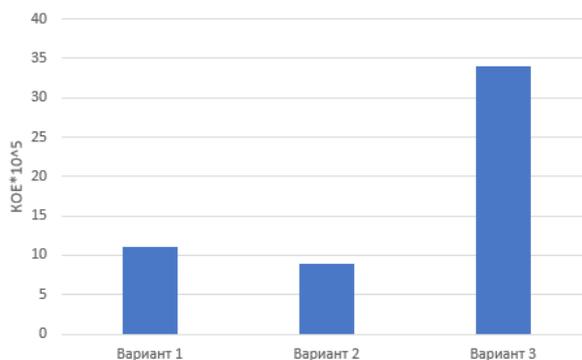


Рисунок 2 - Титр культуры *Rhodotorula roseum* к моменту окончания процесса культивирования 1, 2, 3
DOI: <https://doi.org/10.60797/IRJ.2024.147.16.5>

Согласно полученным данным, титр культуры достигает максимума в варианте среды 3 (34 КОЕ*10⁵). Наименьшие показатели роста наблюдаются на варианте среды 2 (9 КОЕ*10⁵).

Общее количество каротиноидов (в пересчете на β-каротин), продуцируемых дрожжами *Rhodotorula rubra* получилось 1792,73 ± 0,05 мкг/г, а этот же показатель у дрожжей *Rhodotorula roseum* получился 1340,00 ± 0,05 мкг/г.

Заключение

По результатам проведенных исследований показано, что наилучшей питательной средой для выращивания дрожжей *Rhodotorula rubra* и *Rhodotorula roseum* является полусинтетическая питательная среда на основе маннита, дрожжевого экстракта и минеральных солей (вариант 3). Наибольшее суммарное содержание каротиноидов было получено из штамма *Rhodotorula rubra*. Таким образом, данный штамм наиболее технологичен и более коммерчески эффективен.

Конфликт интересов

Не указан.

Рецензия

Все статьи проходят рецензирование. Но рецензент или автор статьи предпочли не публиковать рецензию к этой статье в открытом доступе. Рецензия может быть предоставлена компетентным органам по запросу.

Conflict of Interest

None declared.

Review

All articles are peer-reviewed. But the reviewer or the author of the article chose not to publish a review of this article in the public domain. The review can be provided to the competent authorities upon request.

Список литературы / References

- Басковцева А. С. Микроорганизмы-продуценты каротиноидов / А. С. Басковцева, У. Кыздарбек // Альманах научных работ молодых учёных Пятидесятой научной и учебно-методической конференции Университета ИТМО. — 2021. — Т. 1. — С. 43–46.
- Волкова С. В. Дрожжи рода *Rhodotorula* – перспективный источник каротиноидов для кормопроизводства / С. В. Волкова, Е. С. Белокурова, Д. А. Рубанов // Пищевая индустрия в современных условиях: тренды и инновации : сборник научных статей Международной научно-практической конференции (19 апреля 2023 года). — 2023. — С. 298–302. DOI: 10.47581/2023/GAU-01/Volkova-SV.01.
- Волкова С. В. Моделирование питательной среды с целью максимального биосинтеза каротиноидов дрожжами рода *Rhodotorula* / С. В. Волкова, Е. С. Белокурова, Д. А. Рубанов // Биотехнологии и безопасность в техносфере : сборник материалов III Всероссийской научно-практической конференции студентов и молодых ученых, 11–12 апреля 2023 г. — СПб : ПОЛИТЕХ-ПРЕСС, 2023. — С. 85–86.
- Голохвастов А. Корма для лососевых в аквакультуре России: ситуация и перспективы / А. Голохвастов, А. Пекшина. — URL: <https://sfera.fm/interviews/rybnaya/korma-dlya-lososevykh-v-akvakulture-rossii-situatsiya-i-perspektivy> (дата обращения: 17.05.2024).
- Денисенко О. С. К вопросу о возможности комплексного использования в аквакультуре каротинсодержащих препаратов в составе искусственных комбикормов для осетровых видов рыб / О. С. Денисенко // Научное обозрение. Биологические науки. — 2019. — № 1. — С. 12–17.
- Саматова А. А. Исследование питательной ценности и безопасности кормов, произведенных из отходов спиртовых производств / А. А. Саматова, А. Р. Макаева, З. Д. Муртазина [и др.] // Ветеринарный врач. — 2021. — № 2. — С. 50–54.
- Митрофанова М. А. Применение различных каротиноидных препаратов в комбикормах при выращивании посадочного материала для ремонтно-маточного стада осетровых рыб / М. А. Митрофанова, Ю. В. Сергеева, Ю. В. Федоровых и др. // Нефтегазовые технологии и экологическая безопасность. — 2006. — № 3. — С. 71–77.
- Савкина Л. Доля импорта на рынке кормов для рыб в России снизилась до 68% / Л. Савкина. — URL: <https://www.interfax.ru/business/927555> (дата обращения: 17.05.2024).
- Салдеева К. А. Альтернативные источники протеина при производстве комбикормов для аквакультуры / К. А. Салдеева // Шаг в науку. — 2021. — № 3. — С. 116–119.

10. Червяков О. П. Исследование каротиногенеза дрожжами *Rhodotorula rubra* / О. П. Червяков, С. С. Караулова // Успехи в химии и химической технологии. — 2009. — № 10(103). — С. 117–120.

Список литературы на английском языке / References in English

1. Baskovtseva A. S. Mikroorganizmy-producenty karotinoidov [Microorganisms-producers of carotenoids] / A. S. Baskovtseva, U. Kyzdarbek // Al'manah nauchnyh rabot molodyh uchjonyh Pjatidesjatoj nauchnoj i uchebno-metodicheskoj konferencii Universiteta ITMO [Almanac of scientific works of young scientists of the Fiftieth Scientific and Educational-methodical Conference of ITMO University]. — 2021. — Vol. 1. — P. 43–46. [in Russian]

2. Volkova S. V. Drozhzhi roda *Rhodotorula* – perspektivnyj istochnik karotinoidov dlja kormoproizvodstva [Yeast of the genus *Rhodotorula* is a promising source of carotenoids for feed production] / S. V. Volkova, E. S. Belokurova, D. A. Rubanov // Pishhevaja industrija v sovremennyh uslovijah: trendy i innovacii [Food industry in modern conditions: trends and innovations] : collection of scientific articles of the International Scientific and Practical Conference (April 19, 2023). — 2023. — P. 298–302. DOI: 10.47581/2023/GAU-01/Volkova-SV.01. [in Russian]

3. Volkova S. V. Modelirovanie pitatel'noj sredy s cel'ju maksimal'nogo biosinteza karotinoidov drozhzhami roda *Rhodotorula* [Modeling of the nutrient medium for the purpose of maximum biosynthesis of carotenoids by yeast of the genus *Rhodotorula*] / S. V. Volkova, E. S. Belokurova, D. A. Rubanov // Biotehnologii i bezopasnost' v tehnosfere [Biotechnology and safety in the technosphere] : collection of materials of the III All-Russian Scientific and Practical Conference of students and young scientists, April 11-12, 2023 — St. Petersburg : POLYTECHNIC PRESS, 2023. — P. 85–86. [in Russian]

4. Golokhvastov A. Korma dlja lososevyh v akvakul'ture Rossii: situacija i perspektivy [Salmon feed in aquaculture in Russia: the situation and prospects] / A. Golokhvastov, A. Pekshina. — URL: <https://sfera.fm/interviews/rybnaya/korma-dlya-lososevykh-v-akvakulture-rossii-situatsiya-i-perspektivy> (accessed: 17.05.2024). [in Russian]

5. Denisenko O. S. K voprosu o vozmozhnosti kompleksnogo ispol'zovanija v akvakul'ture karotinsoderzhashhih preparatov v sostave iskusstvennyh kombikormov dlja osetrovyyh vidov ryb [On the issue of the possibility of complex use in aquaculture of carotene-containing preparations as part of artificial compound feeds for sturgeon species] / O. S. Denisenko // Nauchnoe obozrenie. Biologicheskie nauki [Scientific Review. Biological sciences]. — 2019. — № 1. — P. 12–17. [in Russian]

6. Samatova A. A. Issledovanie pitatel'noj cennosti i bezopasnosti kormov, proizvedennyh iz othodov spirtovyh proizvodstv [A study of the nutritional value and safety of feed produced from alcohol production waste] / A. A. Samatova, A. R. Makaeva, Z. D. Murtazina [et al.] // Veterinarnyj vrach [Veterinarian]. — 2021. — № 2. — P. 50–54. [in Russian]

7. Mitrofanova M. A. Primenenie razlichnyh karotinoidnyh preparatov v kombikormah pri vyrashhivanii posadochnogo materiala dlja remontno-matochnogo stada osetrovyyh ryb [The use of various carotenoid preparations in compound feeds when growing planting material for the repair and brood stock of sturgeon fish] / M. A. Mitrofanova, Yu. V. Sergeeva, Yu. V. Fedorov [et al.] // Neftegazovye tehnologii i jekologicheskaja bezopasnost' [Oil and gas technologies and environmental safety]. — 2006. — № 3. — P. 71–77. [in Russian]

8. Savkina L. Dolja importa na rynke kormov dlja ryb v Rossii snizilas' do 68% [The share of imports in the fish feed market in Russia decreased to 68%] / L. Savkina. — URL: <https://www.interfax.ru/business/927555> (accessed: 17.05.2024). [in Russian]

9. Saldeeva K. A. Al'ternativnye istochniki proteina pri proizvodstve kombikormov dlja akvakul'tury [Alternative sources of protein in the production of compound feeds for aquaculture] / K. A. Saldeeva // Shag v nauku [A step into science]. — 2021. — № 3. — P. 116–119. [in Russian]

10. Chervyakov O. P. Issledovanie karotinogeneza drozhzhami *Rhodotorula rubra* [Investigation of carotenogenesis by yeast *Rhodotorula rubra*] / O. P. Chervyakov, S. S. Karaulova // Uspеhi v himii i himicheskoy tehnologii [Advances in chemistry and chemical technology]. — 2009. — № 10(103). — P. 117–120. [in Russian]