

## РІСТ І ВМІСТ КАРОТИНОЇДІВ ДРІЖДЖІВ *RHODOSPORIDIUM DIOBOVATUM* IMB Y-5023 НА НАТУРАЛЬНИХ І СИНТЕТИЧНИХ ЖИВИЛЬНИХ СЕРЕДОВИЩАХ

Ю. Сльчіщева\*, А. Голтвянський

НДІ біології Харківського національного університету імені В.Н. Каразіна  
майдан Свободи, 4, Харків 61022, Україна  
e-mail: yul18424060@yandex.ru

Досліджено особливості росту, вихід біомаси, кількість каротиноїдів і якісний склад культури дріжджів *Rhodosporidium diobovatum* IMB Y-5023 на натуральних і синтетичних живильних середовищах. Встановлено, що натуральні живильні середовища забезпечують інтенсивніший ріст, більший вихід біомаси дріжджів *R. diobovatum* IMB Y-5023 порівняно зі синтетичним живильним середовищем. В усіх досліджуваних живильних середовищах після 96 год росту культура *R. diobovatum* IMB Y-5023 перебувала у стаціонарній фазі, й у всіх трьох випадках після 120 год культивування наставала стадія відмирання. Найбільший загальний вміст каротиноїдів спостерігали після 120 год росту. Якісний склад пігментів за культивування на всіх досліджуваних живильних середовищах був однаковий. *R. diobovatum* IMB Y-5023 містили β-каротин, астаксантин і лікопен. Водночас кількісне співвідношення між пігментами було різне. Для отримання максимальної кількості біомаси *R. diobovatum* IMB Y-5023 з найбільшим вмістом каротиноїдів тривалість культивування має бути не менше 5-ти діб.

*Ключові слова:* *Rhodosporidium diobovatum* IMB Y-5023, тривалість культивування, біомаса, каротиноїди.

У багатьох галузях промисловості, а також у медицині та косметології використовують біомасу дріжджів [11]. Вона широко застосовується завдяки її біологічним властивостям, що, у свою чергу, зумовлене особливостями різних видів і навіть штамів дріжджів, які часто знаходять своє застосування в біотехнології [8]. Відомо, що дріжджі синтезують каротиноїди, які виявляють біологічну активність [16].

Лише кілька таксономічних груп дріжджів, що синтезують каротиноїди, було ґрунтовно досліджено. До них належать: *Phaffia (rhodozyma)*, *Rhodotorula*, *Sporobolomyces/Sporidiobolus*, *Cryptococcus* (Tremellales) [17], *Cystofilobasidium* [9], *Dioszegia* [10]. Дріжджі *R. diobovatum* мають схожі властивості й життєвий цикл до дріжджів роду *Rhodotorula glutinis*, але відрізняються стадією статевого розмноження [12].

При вирощуванні дріжджів у рідкому живильному середовищі спостерігають кілька фаз росту культур: лаг-фазу, експоненційну фазу росту, стаціонарну фазу, фазу відмирання [6]. Тривалість кожної з фаз росту, що відображають зміни у складі біомаси та живильного середовища, може коливатись у широких межах залежно від властивостей організму, його фізіологічного стану, концентрації компонентів живлення, продуктів метаболізму, а також від фізико-хімічних умов культивування [4, 5].

Для промислового біотехнологічного процесу отримання біомаси та різних метаболітів дріжджів має велике значення тривалість культивування, що впливає на рентабельність виробництва і як наслідок – на ціну цільового продукту.

Накопичення максимальної кількості каротиноїдів у клітинах дріжджів спостерігають у стаціонарній фазі росту культури, що обумовлено старінням культури.

Синтез каротиноїдів розглядають як загальний механізм захисту від окислювального стресу [13]. Для отримання біомаси дріжджів із максимальним вмістом каротиноїдних пігментів у біотехнологічному виробництві збір накопиченої біомаси необхідно проводити у стаціонарній фазі росту культури, до того як почнеться стадія відмирання клітин.

Існує ціла низка наукових праць, у яких було досліджено особливості різних фаз росту і їхня тривалість у різних видів каротинсинтезуючих дріжджів, що мають практичну цінність для біотехнологічного виробництва. Серед цих видів представники родів *Rhodotorula*, *Sporobolomyces*, *Sporidiobolus* [11]. Було встановлено, що стаціонарна фаза росту дріжджів *Rh. glutinis* настає після 50-ти год культивування, при цьому тривалість цієї фази становить 30 год, а вже після 80-ти год культивування поступово починається фаза відмирання. У *Sporobolomyces shibatanus* стаціонарна фаза росту триває приблизно до 155 год культивування [2]. У дріжджів *Cystofilobasidium capitatum* стаціонарна фаза росту настає лише після 80 год культивування і триває до 120 год [11].

Водночас у літературі дуже мало даних про характер росту і його тривалість у дріжджів *R. diobovatum* [1, 15]. У зв'язку з цим основною метою даного дослідження було вивчити особливості росту культури дріжджів *R. diobovatum* ІМВ Y-5023 та її характеристики (вихід біомаси, кількість каротиноїдів у ній і їх якісний склад) при культивуванні на натуральних і синтетичних живильних середовищах.

#### Матеріали та методи

Штам базидіоміцетових дріжджів *Rhodospiridium diobovatum* ІМВ Y-5023 було отримано з Депозитарію мікроорганізмів Інституту мікробіології та вірусології імені Д.К. Заболотного НАН України. Маточну культуру підтримували на агаризованому середовищі (26% сусла, 2% агару). Перед культивуванням у досліджуваних рідких середовищах отримували інокулят у рідких середовищах для подальшого культивування. Для цього культуру дріжджів переносили зі скошеного агару в рідкі досліджувані середовища (1 пробірку промивали 10 мл свіжого середовища й отриману суспензію вносили до 50-ти мл рідкого середовища в колби об'ємом 300 мл).

Як експериментальні варіанти використовували середовища такого складу:

1. Середовище ВУ – екстракт пшеничних висівок (3%), екстракт пивних дріжджів (1%). Отриманий екстракт стерилізували в автоклаві 1,5 год при 1,5 атм.

2. Середовище ВУР – (культуральне середовище міцеліального гриба *Pleurotus ostreatus* після двох діб росту міцелію в середовищі ВУ та після видалення міцелію за допомогою фільтрування й термічної обробки за температури 100°C 5 хв).

3. Середовище Рідера з 2% глюкозою як джерелом карбону (г/л) ( $\text{NH}_4\text{NO}_3 - 2$ ;  $\text{FeSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O} - 0,1$ ;  $\text{MgSO}_4 - 0,75$ ;  $\text{KCl} - 0,4$ ;  $\text{K}_2\text{HPO}_4 - 0,1$ ;  $\text{KH}_2\text{PO}_4 - 1$ ).

Колби засівали п'ятидобовою культурою дріжджів (50 мл середовища у колбі на 250 мл), культивували упродовж 5 діб за температури 22°C на орбітальній качалці при 150 об./хв.

Кількість клітин дріжджів *R. diobovatum* ІМВ Y-5023 визначали на 1–5 добу росту прямим підрахунком клітин у камері Горяєва в усіх досліджуваних середовищах. На 2–5 добу росту культури визначали вихід сухої біомаси дріжджів *R. diobovatum* ІМВ Y-5023 у досліджуваних середовищах. Для цього біомасу висушували при температурі 105°C до сталої маси і виражали у г/л сухої маси.

Екстракцію пігментів із клітин дріжджів здійснювали методом, як описано раніше Sedmak [14], за модифікацією Gramza-Michałowska та Stachowiak [7].

До зразка сухої біомаси (з відомою вагою) додавали 5 мл диметилсульфоксиду, нагрітого до 55°C, 30 с інтенсивно струшували пробірками на вортексі. Потім до отриманої

суспензії додавали 5 мл гексану, 30 с інтенсивно струшували пробірки на вортексі, після чого додавали 20%-ний NaCl (порціями 2 рази по 0,5 мл), інтенсивно перемішували. Гексанову фракцію з екстрагованими пігментами відділяли центрифугуванням (15 хв, 3500 g).

Якісний склад пігментів визначали за допомогою обернено-фазової (C18 колонка) ультрависокоєфективної рідинної хроматографії з іонізацією електророзпилення мас-спектрометрії (RP-UHPLC-ESI-MS). Аналіз каротиноїдів проводили з використанням Dionex Ultimate 3000 UHPLC (Thermo Fisher Scientific, Санта-Клеїта, США) у поєднанні зі суміщеним Bruker Maxis надвисокої роздільної здатності з ортогональним квадрупольним час-пролітним прискорювачем (qTOF), який забезпечений джерелом ESI та керований у режимі позитивних іонів (Bruker Daltonik, Бремен, Німеччина).

Обернено-фазове хроматографічне розділення досягалося за допомогою Kinetex™ 1,7 мкм C18 100 Å, колонка LC 100 × 2,1 мм (Phenomenex, Torrance, США). Параметри ESI-MS були такими: напруга в капілярі 4500 В, розпилення газу 1,8 бар, а сухий газ 9 л/хв при 200°C. Діапазон сканування був від маси до заряду (m/z) від 80 до 1200. Рухомі фази складалася з 70% А: 1% HCOOH у H<sub>2</sub>O/ACN (ацетонітрил) (5:95, об/об) і 30% В: 1% HCOOH в H<sub>2</sub>O/THF (тетрагідрофуран) (5:95, об/об). Швидкість потоку була 0,2 мл/хв з ізократичним елююванням. Об'єм введеної проби становив 2 мкл. Температура колонки була встановлена на рівні 30°C. Система ESI-MS була відкалібрована з використанням кластерів формиату натрію, введених петлею-ін'єкцією на початку прогону LC-MS. Дані LC-MS були оброблені за допомогою програмного забезпечення аналізу даних 4.1 (Bruker Daltonik, Бремен, Німеччина). Молекулярні іони [M + H]<sup>+</sup> були отримані з повного сканування хроматограм, і площі піків були об'єднані. Вікно розпакування окремих іонних хроматограм ± 0,05 m/z одиниць. Сполуки, наявні в кожному зразку, були визначені шляхом порівняння їх часу утримування з тими стандартами, і на основі молекулярної маси та структурної інформації з детектора MS.

Усі експерименти були проведені у трьох повторах. Отримані результати статистично оброблені за допомогою програми STATISTICA 10. Статистичну помилку й достовірну різницю визначали, використовуючи непараметричний метод аналізу.

#### Результати і їхнє обговорення

При культивуванні дріжджів *R. diobovatum* IMB Y-5023 на живильному середовищі Рідера лаг-фаза тривала одну добу, після чого наставала фаза експоненціального росту, яка тривала майже дві доби, а вже після 72-х год росту наставала стаціонарна фаза росту (рис. 1). На шосту добу спостерігалось відмирання клітин, що виражалося у зменшенні кількості клітин у культурі (рис. 1). При цьому протягом усього часу культивування *R. diobovatum* IMB Y-5023 в середовищі Рідера спостерігалася досить низька концентрація клітин дріжджів (рис. 1).

При культивуванні дріжджів *R. diobovatum* IMB Y-5023 на живильному середовищі ВУ стаціонарна фаза наставала після 72 год росту (рис. 1). На шосту добу культивування спостерігалось старіння клітин (рис. 1). Концентрація клітин дріжджів при культивуванні на цьому живильному середовищі була значно вищою порівняно зі середовищем Рідера (майже у 4 рази) під час стаціонарної фази росту (рис. 1).

При культивуванні *R. diobovatum* IMB Y-5023 на живильному середовищі ВУР вихід на стаціонарну фазу росту спостерігався тільки після 96 год культивування (рис. 1). Як і в разі двох вищеописаних живильних середовищ, після 5 діб культивування спостерігалася фаза відмирання культури (рис. 1). Концентрація клітин дріжджів *R. diobovatum* IMB Y-5023 на цьому живильному середовищі була найвищою (рис. 1).

Таким чином, найкоротша стаціонарна фаза росту дріжджів спостерігалася при найвищій концентрації клітин у разі культивування на живильному середовищі ВУР. Але в усіх трьох досліджуваних живильних середовищах після 96 год росту культура *R. diobovatum* ІМВ У-5023 перебувала у стаціонарній фазі, й у всіх трьох випадках після 120 год культивування наставала стадія відмирання клітин, що виражалося у зменшенні кількості клітин у культурі (рис. 1).

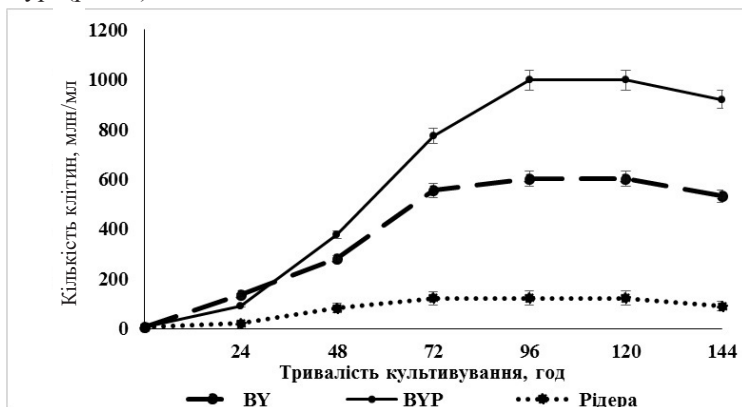


Рис. 1. Динаміка росту дріжджів *R. diobovatum* ІМВ У-5023 у процесі культивування на різних живильних середовищах.

Оскільки при культивуванні *R. diobovatum* ІМВ У-5023 на середовищі Рідера спостерігали найменшу концентрацію клітин, то в подальшому дослідженні визначали вихід біомаси *R. diobovatum* ІМВ У-5023 після культивування на цьому середовищі тільки в стаціонарній фазі після 120 год росту. Вихід біомаси дріжджів *R. diobovatum* ІМВ У-5023 на середовищі Рідера був 3,1 г/л сухої маси клітин.

При культивуванні дріжджів *R. diobovatum* ІМВ У-5023 на середовищах ВУ та ВУР вихід сухої маси досліджували кожні 24 год, починаючи від 48 год росту до 120 год.

Було встановлено, що після 48 год культивування дріжджів *R. diobovatum* ІМВ У-5023 на середовищі ВУ накопичувалося на 33% менше біомаси, ніж на середовищі ВУР (рис. 2). Упродовж наступних 24 год біомаса дріжджів на середовищі ВУ зростає на 34%, а на середовищі ВУР на 15% (рис. 2). При досягненні стаціонарної фази росту, тобто на 4-ту добу культивування на середовищі ВУ вихід сухої маси *R. diobovatum* ІМВ У-5023 збільшився лише на 9,8% порівняно з попередньою добою, тоді як на середовищі ВУР – на 36,5% (рис. 2). Після 120 год культивування вихід сухої маси дріжджів суттєво не змінювався (рис. 2).

Таким чином, найбільший вихід сухої маси дріжджів *R. diobovatum* ІМВ У-5023 на 120 год культивування був на середовищі ВУР і становив 6,9 г/л. Найменший вихід сухої маси був отриманий після культивування дріжджів на середовищі Рідера – 3,1 г/л. На середовищі ВУ цей показник становив 4,2 г/л.

Оскільки при культивуванні *R. diobovatum* ІМВ У-5023 на синтетичному середовищі Рідера спостерігалася найменша концентрація клітин, а вихід сухої біомаси після культивування на цьому середовищі у стаціонарній фазі росту був найменший з усіх трьох досліджуваних живильних середовищ, то в подальшому дослідженні встановлювали вміст загальних каротиноїдів і їхній якісний склад у біомасі тільки після 120 год культивування. Було встановлено, що загальний вміст пігментів становив 3,7 мг/г сухої маси *R. diobovatum* ІМВ У-5023.

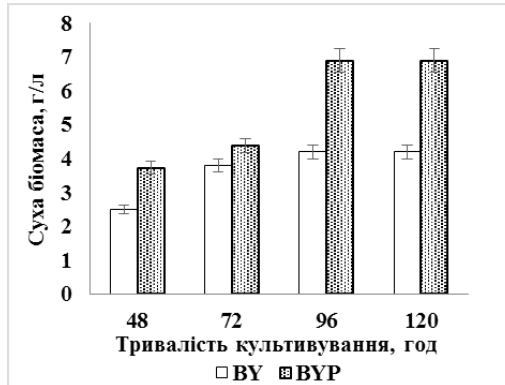


Рис. 2. Вихід сухої біомаси дріжджів *R. diobovatum* IMB Y-5023 на середовищах ВУ та ВУР.

За культивування дріжджів *R. diobovatum* IMB Y-5023 на середовищах ВУ та ВУР вміст загальних каротиноїдів і їхній якісний склад у біомасі досліджували кожні 24 год, починаючи від 48 год росту до 120.

За культивування *R. diobovatum* IMB Y-5023 на середовищі ВУ вже після 48 год росту вміст загальних каротиноїдів був у 2,3 разу менший порівняно з їхнім вмістом у біомасі після культивування на середовищі ВУР (рис. 3). Після 72 год культивування дріжджів різниця між цим показником незначно зросла до 2,4 разу (рис. 3), тоді як у стаціонарній фазі росту (96 і 120 год культивування) вона зменшувалася до 2 і 1,85 разу відповідно (рис. 3).

Якщо розглянути окремо динаміку накопичення загальних каротиноїдних пігментів у біомасі дріжджів *R. diobovatum* IMB Y-5023 при культивуванні на ВУ і ВУР середовищах, то можна зробити висновок, що вона подібна до характеру накопичення біомаси, тобто загальна кількість каротиноїдів збільшувалася впродовж кожної наступної доби культивування дріжджів. Слід відзначити одну важливу відмінність, яка полягає в тому, що у стаціонарній фазі росту (96–120 год культивування) біомаса *R. diobovatum* IMB Y-5023 була сталою, тоді як вміст каротиноїдів зростав у цей період і був максимальним після 120 год культивування (рис. 3). Це підтверджує той факт, що найбільший вміст каротиноїдних пігментів у клітинах дріжджів спостерігають у стаціонарній фазі росту при старінні культури.

Отже, після 120 год культивування дріжджів *R. diobovatum* IMB Y-5023 на всіх трьох досліджуваних живильних середовищах найбільший вміст каротиноїдів був у біомасі після росту на середовищі Рідера, водночас вихід сухої маси на цьому середовищі був найменшим. Найменша кількість каротиноїдів була у біомасі після росту на середовищі ВУ. При культивуванні *R. diobovatum* IMB Y-5023 на середовищі ВУР вміст каротиноїдів у біомасі був на 10% меншим, ніж після культивування на середовищі Рідера, а вихід сухої біомаси був найбільшим. Вочевидь, прямо пропорційного або обернено пропорційного зв'язку між накопиченням біомаси і вмістом каротиноїдів у біомасі дріжджів *R. diobovatum* IMB Y-5023 не було.

Відомо, що одним з основних пігментів дріжджів *R. diobovatum* є  $\beta$ -каротин [1]. Співвідношення пігментів у клітинах дріжджів залежить від умов культивування [3].

У результаті аналізу якісного складу каротиноїдів у біомасі дріжджів *R. diobovatum* IMB Y-5023 було встановлено, що при культивуванні на всіх досліджуваних середовищах, у клітинах синтезуються такі пігменти:  $\beta$ -каротин, астаксантин, лікопен (див. таблицю).

При культивуванні *R. diobovatum* IMB Y-5023 на середовищах ВУ і ВУР зі збільшенням тривалості росту зростав не тільки вміст загальних каротиноїдів у біомасі, але й

змінювалося співвідношення між пігментами. Таким чином, після 48 год росту дріжджів на середовищі ВУ було виявлено, що у їхній біомасі на  $\beta$ -каротин припадає майже 11% від загальної кількості пігментів, на астаксантин – 1%, на лікопен – 88% (див. таблицю). У процесі росту культури це співвідношення змінювалося у бік зростання вмісту  $\beta$ -каротину й зменшення лікопену, а після 120 год культивування на  $\beta$ -каротин припадало 50% від загального вмісту пігментів, на лікопен – 48,9% (табл.). Слід зазначити, що відсоткова частка астаксантину майже не змінювалася у процесі росту *R. diobovatum* ІМВ Y-5023, й після 120 год культивування вона становила 1,1% (див. таблицю).



Рис. 3. Загальний вміст каротиноїдів у сухій масі дріжджів *R. diobovatum* ІМВ Y-5023.

Після 48 год росту дріжджів у середовищі ВУР було виявлено, що в їхній біомасі на  $\beta$ -каротин припадає майже 19% від загального вмісту пігментів, на астаксантин – лише 0,5%, на лікопен – 80,5%. Як і у разі культивування *R. diobovatum* ІМВ Y-5023 на середовищі ВУ кількісне співвідношення між пігментами змінювалося в бік зростання вмісту  $\beta$ -каротину і зменшення лікопену, й після 120 год культивування на  $\beta$ -каротин припадало 48,9% від загального вмісту пігментів, на лікопен – 49,6%. Відсоткова частка астаксантину незначно зростала й після 120 год культивування становила 1,5% (див. таблицю).

Якщо у разі культивування дріжджів *R. diobovatum* ІМВ Y-5023 на натуральних живильних середовищах ВУ і ВУР після 120 год культивування у їх біомасі вміст  $\beta$ -каротину та лікопену був майже однаковим, то у разі культивування на синтетичному середовищі Рідера більша частина припадала на лікопен і становила 75,1%, астаксантин становив 1,6% від загального вмісту каротиноїдів, решта припадала на  $\beta$ -каротин (див. таблицю).

Вміст каротиноїдів у сухій масі дріжджів *R. diobovatum* ІМВ Y-5023 (мг/г с. м.;  $M \pm m$ ;  $n=5$ )

Живильне середовище	Тривалість культивування, год	Пігмент		
		$\beta$ -каротин	Астаксантин	Лікопен
ВУ	48	0,1 $\pm$ 0,005	0,01 $\pm$ 0,0005	0,8 $\pm$ 0,04
ВУ	72	0,2 $\pm$ 0,01	0,015 $\pm$ 0,0007	1,0 $\pm$ 0,05
ВУ	96	0,34 $\pm$ 0,017	0,02 $\pm$ 0,001	1,14 $\pm$ 0,05
ВУ	120	0,9 $\pm$ 0,045	0,02 $\pm$ 0,001	0,88 $\pm$ 0,04
ВУР	48	0,4 $\pm$ 0,02	0,01 $\pm$ 0,0005	1,7 $\pm$ 0,08
ВУР	72	0,81 $\pm$ 0,04	0,02 $\pm$ 0,001	2,08 $\pm$ 0,1
ВУР	96	1,1 $\pm$ 0,05	0,03 $\pm$ 0,001	1,87 $\pm$ 0,09
ВУР	120	1,64 $\pm$ 0,08	0,05 $\pm$ 0,002	1,66 $\pm$ 0,08
Рідера	120	0,86 $\pm$ 0,04	0,06 $\pm$ 0,003	2,78 $\pm$ 0,13

Підсумовуючи отримані дані, слід наголосити, що незалежно від того, на якому живильному середовищі проводили культивування дріжджів *R. diobovatum* ІМВ Y-5023 (на-

туральному чи синтетичному), і, як наслідок, незалежно від концентрації клітин у культурі, після 120 год культивування спостерігалась фаза відмирання. Оскільки максимальна біомаса накопичувалася після 96–120 год росту, а найбільший вміст каротиноїдів у ній був виявлений тільки після 120 год культивування *R. diobovatum* ІМВ У-5023, то тривалість культивування має бути не менше 120 год для отримання максимальної кількості біомаси з найбільшим вмістом каротиноїдів.

Натуральні живильні середовища ВУ і ВУР забезпечують більший вихід біомаси дріжджів *R. diobovatum* ІМВ У-5023, у чому полягає одна з їх переваг порівняно зі синтетичним живильним середовищем Рідера.

Автори висловлюють подяку д-ру Б. Стахов'як, д-ру А. Швенгель і співробітникам Інституту технологій харчування рослинного походження (Познанський університет природничих наук, Польща) за допомогу в аналізі каротиноїдного складу у зразках біомаси.

#### СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Buzzini P., Innocenti M., Turchetti B. et al. Carotenoid profiles of yeasts belonging to the genera *Rhodotorula*, *Rhodospiridium*, *Sporobolomyces*, and *Sporidiobolus* // Can. J. Microbiol. 2007. Vol. 53. P. 1024–1031.
2. Čarnecká M. Molecular study of intracellular changes as response of microorganisms to environment: Phd thesis. Brno. 2009. 120 p.
3. El-Rhman El-Banna A. A., El-Razek A. M. A., El-Mahdy A. R. Isolation, identification and screening of carotenoid-producing strains of *Rhodotorula glutinis* // Food Nutr. Sci. 2012. Vol. 3. P. 627–633.
4. Frengova G. I., Beshkova D. M. Carotenoids from *Rhodotorula* and *Phaffia*: yeasts of biotechnological importance // J. Ind. Microbiol. Biotechnol. 2009. Vol. 36. N 2. P. 163–180.
5. Goltvianskiy A., Ielchishcheva Iu., Stachowiak B. et al. Preculture of *Pleurotus ostreatus* increases the yield of yeast biomass // Int. J. Curr. Microbiol. App. Sci. 2015. Vol. 4. N 3. P. 124–133.
6. Gow N. A. R., Gadd G. M., Robson G. D. The Fungal Colony // Twenty-first Symposium of the British Mycological Society. Cambridge University Press. Cambridge. 1999.
7. Gramza-Michalowska A., Stachowiak B. The antioxidant potential of carotenoid extract from *Phaffia rhodozyma* // Acta Sci. Pol., Technol. Aliment. 2010. Vol. 9. N 2. P. 171–188.
8. Guo W., Tang H., Zhang L. Lycopene cyclase and phytoene synthase activities in the marine yeast *Rhodospiridium diobovatum* are encoded by a single gene crtYB // J. Basic Microbiol. 2014. Vol. 54. P. 1–9.
9. Libkind D., del Diéguez M. C., Moliné M. et al. Occurrence of photoprotective compounds in yeasts from freshwater ecosystems of northwestern patagonia (Argentina) // Photochem. Photobiol. 2006. Vol. 82. P. 972–980.
10. Madhour A., Anke H., Mucci A. et al. Biosynthesis of the xanthophyll plectanixanthin as a stress response in the red yeast *Dioszegia* (Tremellales, Heterobasidiomycetes, Fungi) // Phytochemistry. 2005. Vol. 66. P. 2617–2626.
11. Marova I., Certik M., Brejterova E. Production of enriched biomass by carotenogenic yeasts – application of whole-cell yeast biomass to production of pigments and other lipid compounds: Biomass – Detection, Production and Usage: InTech, 2011. 345–384 p.
12. Newell S. Y., Hunter I. L. *Rhodospiridium diobovatum* sp. n., the perfect form of an asporogenous yeast (*Rhodotorula* sp.) // J. Bacteriol. 1970. Vol. 104. P. 503–508.
13. Schroeder W. A., Johnson E. A. Carotenoids protect *Phaffia rhodozyma* against singlet oxygen damage // J. Ind. Microbiol. 1995. Vol. 14. P. 502–507.

14. Sedmak J. J., Weerasinghe D. K., Jolly S. O. Extraction and quantification of astaxanthin from *Phaffia rhodozyma* // Biotechnol Tech. 1990. Vol. 4. N 2. P. 107–112.
15. Seshadri S., Saranya K., Kowshik M. Green synthesis of lead sulfide nanoparticles by the lead resistant marine yeast, *Rhodospiridium diobovatum* // Biotechnol. Prog. 2011. Vol. 27. N 5. P. 1464–1469.
16. Walter M. H., Strack D. Carotenoids and their cleavage products: Biosynthesis and functions // Nat. Prod. Rep. 2011. Vol. 28. P. 663–692.
17. Yurkov A. M., Vustin M. M., Tyaglov B. V. et al. Pigmented basidiomycetous yeasts are a promising source of carotenoids and ubiquinone Q<sub>10</sub> // Microbiol. 2008. Vol. 77. N 1. P. 5–10.

Стаття: надійшла до редакції 31.03.15

доопрацьована 30.06.15

прийнята до друку 08.09.15

## GROWTH AND CAROTENOIDS CONTENT OF YEAST *RHODOSPORIDIUM* *DIIOBOVATUM* IMB Y-5023 IN NATURAL AND SYNTHETIC MEDIA

Iu. Ielchishcheva\*, A. Goltvianskiy

*Research Institute of Biology, V. N. Karazin Kharkiv National University*  
4, Svobody Sq., Kharkiv 61022, Ukraine  
e-mail: yul18424060@yandex.ru

The growth peculiarities, biomass yield, carotenoids content and their qualitative composition of yeast *R. diobovatum* IMB Y-5023 in natural and synthetic media were studied. It was established that the natural nutrient media provide more intensive growth and higher biomass yield of *R. diobovatum* IMB Y-5023 as compared to synthetic nutrient medium. In all studied media *R. diobovatum* IMB Y-5023 culture entered stationary phase and extinction phase within 96 h and 120 h of cultivation, respectively. The highest content of total carotenoids was observed after 120 h of cultivation. Qualitative composition of yeast pigments after cultivation in in all studied media was similar and included  $\beta$ -carotene, astaxanthin and lycopene, whereas quantitative composition was significantly different. It was shown that in order to get the highest biomass and carotenoid yield in *R. diobovatum* IMB Y-5023 culture the cultivation duration should be at least 5 days.

*Keywords:* *Rhodospiridium diobovatum* IMB Y-5023, cultivation duration, biomass, carotenoids.

## РОСТ И СОДЕРЖАНИЕ КАРОТИНОИДОВ ДРОЖЖЕЙ *RHODOSPORIDIUM DIIOBOVATUM* IMB Y-5023 НА НАТУРАЛЬНЫХ И СИНТЕТИЧЕСКИХ ПИТАТЕЛЬНЫХ СРЕДАХ

Ю. Ельчищева\*, А. Голтвянский

*НИИ Биологии Харьковского национального университета им. В.Н. Каразина*  
площадь Свободы, 4, Харьков 61022, Украина  
e-mail: yul18424060@yandex.ru

Исследованы особенности роста, выход биомассы, количество каротиноидов и качественный состав культуры дрожжей *R. diobovatum* IMB Y-5023 на натуральных и



синтетических питательных средах. Установлено, что питательные среды натурального состава обеспечивают более интенсивный рост, больший выход биомассы дрожжей *R. diobovatum* IMB Y-5023 в сравнении с синтетической питательной средой. Во всех исследуемых питательных средах после 96 часов роста культура *R. diobovatum* IMB Y-5023 находилась в стационарной фазе, и во всех трех случаях после 120 часов культивирования наступала стадия отмирания. Наибольшее содержание общих каротиноидов наблюдали после 120 часов роста. Качественный состав пигментов при культивировании на всех исследуемых питательных средах был одинаковым. *R. diobovatum* IMB Y-5023 содержали  $\beta$ -каротин, астаксантин и ликопин. В то же время количественное соотношение между пигментами было разным. Для получения максимального количества биомассы *R. diobovatum* IMB Y-5023 с наибольшим содержанием каротиноидов длительность культивирования должна составлять не менее 5-ти суток.

*Ключевые слова:* *Rhodosporidium diobovatum* IMB Y-5023, длительность культивирования, биомасса, каротиноиды.