

При анализе этих звеньев на предмет зависимости длительности сигнала прямоугольной, треугольной и пилообразной формы от постоянной времени звена было выявлено, что не все звенья могут быть использованы в качестве ИП.

Выводы

1. Найденены математические модели ИП на основе типовых звеньев.
2. Исследована возможность использования импульсных сигналов различной формы для питания ИП.
3. В ходе анализа выявлены возможные сочетания ИП и типовых сигналов для их дальнейшего практического использования.

Литература

1. Патент РФ № 2121149. Импульсный измерительный преобразователь // Бугров А.В. Латышенко К.П., Левин А.В. Изобретения. Полезные модели № 30, 1998.
2. Головин В.В. Использование импульсной модуляции в кондуктометрии//Актуальные проблемы технических наук: сб. ст. Междунар. н.-практ. конф. – Уфа: Аэтерна, 2014. с. 6 – 8.

Индукция каротиногена у дрожжей *Phaffia rhodozyma* штамм Y2228 при образовании синглетного кислорода в культуральной жидкости под действием пероксида водорода

Мельникова Е.В., к.т.н. Герман Л.С., д.т.н. проф. Крамм Э.А.
Университет машиностроения
melnikovanoble@gmail.com

Аннотация. В статье рассмотрен способ индукции каротиногена у дрожжей *Phaffia rhodozyma* штамм Y2228 при помощи пероксида водорода.

Ключевые слова: биомасса дрожжей, каротиноиды, синглетный кислород

Дрожжи *Phaffia rhodozyma* штамм Y2228 являются продуцентом астаксантина. Эти дрожжи способны утилизировать как шестиатомные, так и пятиатомные сахара.

Астаксантин является высшим каротиноидом с самой высокой антиоксидантной активностью. В организмах высших животных астаксантин выполняет регуляторные функции, повышает иммунитет, повышает выживаемость особей в условиях стресса и вредных воздействий окружающей среды.

Благодаря способности культуры утилизировать пяти- и шестиатомные сахара возможно получение кормового препарата, содержащего астаксантин из послеспиртовой барды.

Послеспиртовая барда для культивирования дрожжей *Phaffia rhodozyma* штамм Y2228 требует предварительной переработки, включающей разделение барды на фракции, слабый гидролиз биомассы спиртовых дрожжей и двухступенчатый гидролиз дробины (для получения пяти- и шестиатомных моносахаров).

Однако в результате гидролиза цветность питательной среды не позволяет получить нужную концентрацию синглетного кислорода, образующегося при воздействии света, чтобы индуцировать каротиногенез у дрожжей.

Получить синглетный кислород в культуральной жидкости возможно при внесении в культуральную жидкость органических или неорганических окислителей. При выборе окислителя следует учитывать его токсичность и токсичность продуктов разложения, так как токсины могут угнетать рост биомассы дрожжей, а содержание токсинов в кормовых продуктах недопустимо.

В предварительных экспериментах из трех неорганических окислителей, показавших возможность их применения для получения такой концентрации синглетного кислорода, которая индуцирует образование астаксантина, по вышеназванным причинам выбран пероксид водорода [1].

План многоуровневого эксперимента в абсолютных единицах

№ п/п	Концентрация H_2O_2 , ммоль/л	Время внесения, час от начала культивирования	Объем культуральной жидкости, мл	Количество внесений, раз
1	8	0	10	1
2	8	6	15	2
3	8	12	20	3
4	8	18	25	4
5	10	0	25	4
6	10	6	20	3
7	10	12	15	2
8	10	18	10	1
9	12	0	15	2
10	12	6	20	4
11	12	12	25	1
12	12	18	10	2
13	14	0	20	3
14	14	6	15	1
15	14	12	25	4
16	14	18	10	3

Таблица №2

Результаты эксперимента

№ п/п	Конечная концентрация астаксантина, мг/л (Y1)	Концентрация биомассы, г (Y2)	Концентрация АК, мг/г сухой биомассы (Y3)
1	29,74	28,6	1,04
2	40,3	24,4	1,66
3	26,47	22,0	1,21
4	14,42	20,6	0,7
5	10,31	22,4	0,46
6	30,84	22,4	1,38
7	39,97	23,6	1,7
8	17,72	24,0	0,74
9	35,74	22,6	1,59
10	23,26	19,2	1,22
11	9,05	22,6	0,4
12	26,71	18,0	1,49
13	20,0	21,0	0,96
14	33,86	19,6	1,73
15	12,41	9,4	1,32
16	25,43	24,0	1,06

Для определения оптимальных условий культивирования и максимального выхода астаксантина проведен эксперимент согласно многоуровневому плану латинских прямоугольников для 4 факторов на 4 уровнях. Основными варьируемыми параметрами выбраны: концентрация пероксида водорода, время внесения (через сколько часов после начала культивирования будет внесен пероксид водорода), количество внесений пероксида водорода и объем культуральной жидкости в колбе.

Результаты эксперимента представлены в таблице №2.

**Итоги расчетов величины эффектов аддитивно-решетчатого описания
для конечной концентрации астаксантина, мг/л (Y1)**

№ п/п	Наименование фактора		Натуральные и кодированные значения уровней факторов			
			8	10	12	14
1	S1	Концентрация H ₂ O ₂	8	10	12	14
		Эффект	2,96	-0,06	-1,08	-1,845
2	S2	Время внесения	0	6	12	18
		Эффект	-0,82	7,29	-2,79	-3,7
3	S3	Объем культуральной жидкости	10	15	20	25
		Эффект	0,13	12,69	0,39	-13,22
4	S4	Количество внесений	1	2	3	4
		Эффект	-2,18	10,91	0,915	-9,67

Таблица № 4

**Итоги расчетов величины эффектов аддитивно-решетчатого описания для
концентрации биомассы, г (Y2)**

№ п/п	Наименование фактора		Натуральные и кодированные значения уровней факторов			
			8	10	12	14
1	S1	Концентрация H ₂ O ₂	8	10	12	14
		Эффект	2,37	1,57	-0,93	-3,03
2	S2	Время внесения	0	6	12	18
		Эффект	2,12	-0,13	-2,13	0,12
3	S3	Объем культуральной жидкости	10	15	20	25
		Эффект	2,12	1,02	0,37	-2,78
4	S4	Количество внесений	1	2	3	4
		Эффект	2,17	0,62	0,82	-3,63

Таблица № 5

**Итоги расчетов величины эффектов аддитивно-решетчатого описания
для концентрации АК мг/г биомассы (Y3).**

№ п/п	Наименование фактора		Натуральные и кодированные значения уровней факторов			
			8	10	12	14
1	S1	Концентрация H ₂ O ₂	8	10	12	14
		Эффект	-0,01	-0,1	0,01	0,1
2	S2	Время внесения	0	6	12	18
		Эффект	-0,15	0,33	-0,01	-0,17
3	S3	Объем культ. жидкости	10	15	20	25
		Эффект	-0,08	0,5	0,39	-0,45
4	S4	Количество внесений	1	2	3	4
		Эффект	-0,19	0,44	-0,01	-0,24

Анализ кривых эффектов факторов эксперимента показал, что для получения высокой конечной концентрации астаксантина (40,3 мкг/мл) концентрация пероксида водорода не должна превышать 10 мМоль/л, необходимо двукратное внесение этой концентрации пероксида водорода в течение стадии роста культуры с максимальной удельной скоростью роста.

При такой концентрации пероксида водорода скорость синтеза астаксантина и его конечная концентрация соответствуют культивированию при постоянном освещении (максимальной полученной концентрации при оптимальной постоянной освещенности 200 лк – 38 мкг/л). Очевидно, что такая концентрация пероксида водорода частично ингибирует рост

клеток дрожжей. Для того чтобы определить оптимальные параметры внесения пероксида водорода для получения максимального количества биомассы, следует определиться с тем, какой продукт наиболее выгоден для производства. Возможно получение препарата с высоким содержанием астаксантина (более 2 мг/г СБ), но в таком препарате внутриклеточное содержание сырого протеина будет менее 20%, а рынок сбыта – только производство красной рыбы. Возможно получение препарата, содержащего не менее 0,5 мг/г СБ астаксантина, но при этом содержание сырого протеина в клетках будет не менее 50%. Такой препарат можно использовать и при кормлении красной рыбы и при кормлении других сельскохозяйственных животных (особенно молодняка и элитных особей). Для того чтобы найти оптимальную концентрацию пероксида водорода, обеспечивающую содержание астаксантина не менее 0,5 мг/г СБ, необходимо повторить данный эксперимент с выбором другого диапазона значений концентрации пероксида водорода, используя концентрацию пероксида водорода менее 8%.

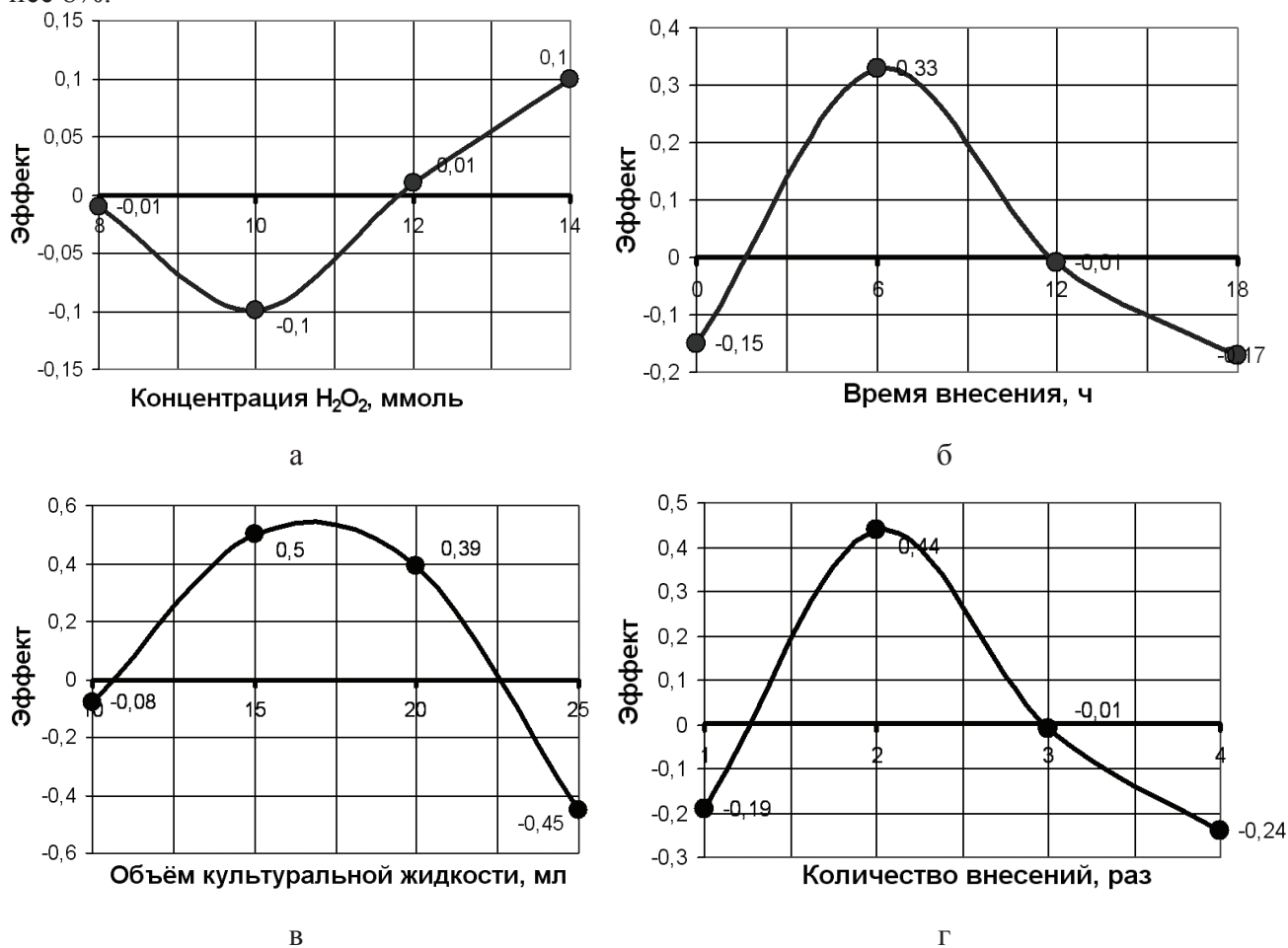


Рисунок 1. Кривые эффектов факторов эксперимента

Проведенные исследования показали, что для индукции синтеза астаксантина можно использовать не свет, а синглетный кислород, полученный в результате действия химического окислителя.

Литература

1. Мельникова Е.В., Герман Л.С. Индуцирование каротиногенеза у дрожжей *Phaffia rhodozyma* штамм у2228 при образовании синглетного кислорода в культуральной жидкости под действием пероксида водорода// Биология – наука XXI века: 18-я Междунар. Пущинская школа-конференция молодых ученых (Пущино, 21 - 25 апреля 2014 г.). Сборник тезисов, с. 31 – 32.