

СКЛАД ЕФІРНОЇ ОЛІЇ, ЩО СИНТЕЗУЄТЬСЯ ПРОДУЦЕНТОМ РИБОФЛАВІНУ *EREMOTHECIUM ASHBYI*

Богацький О.В., Поліщук В.Ю.

КПІ ім. Ігоря Сікорського, sasha.bagackiy@gmail.com

Вступ. Попит на ефірні олії постійно зростає завдяки розвитку фармацевтичної, косметичної та парфумерної галузі. Проте традиційний спосіб отримання таких олій не може задовольнити всі потреби людства [1].

Особливий інтерес, як нетрадиційних джерел ефірних олій, представляють мікроорганізми (бактерії, актиноміцети, гриби, дріжджі), здатні синтезувати ці речовини *de novo*. Найбільш перспективними з метою отримання ефірних олій і летючих запашних з'єднань з різноманітними напрямками запаху є грибні культури, які відносяться до базидіоміцетів і аскоміцетів, в тому числі дріжджі.

До речовин, що мають аромат троянди відносяться фенілетиловий спирт, цитронеллол, гераніол, нерол та деякі інші.

Таблиця 1. Мікроорганізми продуценти ефірних олій з ароматом троянди [2]

Мікроорганізм	Склад ефірної олії
<i>Ambrosiozyma cicatricosa</i>	гераніол, цитронеллол, ліналоол, нерол, β -фенілетанол, α -терпінеол, цитраль
<i>Ceratocystis fimbriata</i>	ліналоол, цитронеллол, гераніол, α -терпінеол
<i>Eremothecium ashbyi</i>	гераніол, цитронеллол, нерол, ліналоол, β -фенілетанол, цитраль, фарнезол
<i>Eremothecium gossypii</i>	гераніол, цитронеллол, нерол, ліналоол, β -фенілетанол, цитраль, фарнезол
<i>Kluyveromyces lactis</i>	цитронеллол, гераніол, ліналоол, β -фенілетанол, ефіри
<i>Mycena pura</i>	цитронеллол
<i>Saccharomyces sp.</i>	β -фенілетанол
<i>Trichothecium roseum</i>	нерол, ліналоол, цитронеллол, терпінеол, неролідол, ліналілацетат, цитронеллілацетат, геранілацетат,

Особливу увагу звертають на себе гриби роду *Eremothecium*, оскільки, крім синтезу ефірної олії, вони здатні до понадсинтезу такого цінного вітаміну як рибофлавін [3-5].

У дослідженнях Semenova E. зазначено, що до складу ефірної олії з грибів роду *Eremothecium* входять: β -фенілетанол (20–57 %), гераніол (31–81 %), цитронеллол (2,5–11 %), нерол (1,1–6,8 %) [6-8].

Іншими дослідниками за допомогою газової хромато-мас-спектрометрії (GC-MS) було виявлено, що до складу ефірної олії, виділеної з *Eremothecium ashbyi* H4565, входять: гераніол (36,46%), цитронеллол (33,47%), фенілетиловий спирт (5,35%), лонгіфолен (5,24%), ліналоол (4,19%) та неролідол (4,15%) [9].

Метою нашої роботи було дослідження складу ефірної олії, що продукується *Eremothecium ashbyi* Guillerm. F-340.

Матеріали та методи. Об'єктом дослідження був штам *Eremothecium ashbyi* Guillerm. F-340 (таксономічне положення відповідно до міжнародної бази систематики грибів SABI Bioscience та бази даних CBS Database of Fungal Names

Fungi, Ascomycota, Saccharomycotina, Saccharomycetes, Saccharomycetidae, Saccharomycetales, Eremotheciaceae) та його здатність до синтезу ефірної олії.

Штам гриба зберігався при кімнатній температурі на середовищі складу (у %): глюкоза – 1,0; пептон – 0,3; дріжджовий екстракт – 0,5; агар – 2,0. Відновлювали на середовищі такого ж складу.

Культивування гриба відбувалось на рідкому глюкозо-пептонному середовищі за температури 28°C протягом 7 діб при постійному перемішуванні 180 об/хв на орбітальних шейкерах в конічних колбах на 250 мл, заповнених на 1/5 об'єму.

Екстракція ефірної олії здійснювалась гексаном. Фракція гексану відділялась від водної фракції та біомаси за допомогою ділильної воронки. Гексан випаровували за допомогою роторного випаровувача ІКА RV 05 Basic. Отриманий залишок аналізували за допомогою рідинної хромато-мас-спектрометрії та газової хромато-мас-спектрометрії (LCMS- та GCMS-прилади виробництва Agilent).

Результати та обговорення.

Найбільш цінною та затребуваною ефірною олією троянди є олія болгарського виробництва, яка містить незначну кількість фенілетилового спирту (менше 3,5 %), за рахунок цього в ній збільшується кількість монотерпенових спиртів.

Аналіз ефірної олії, виділеної з *E.ashbyi* F-340 за допомогою GCMS (рис.1) показав, що найбільше у складі ефірної олії гераніола – 49,9% (5,687), трохи менше лонгіфолена – 36,5% (10,983), фенілетилового спирту – 2,2% (5,467) та незначні кількості ліналоола та неролідола. На даному спектрі відсутній моль-іон цитронелола.

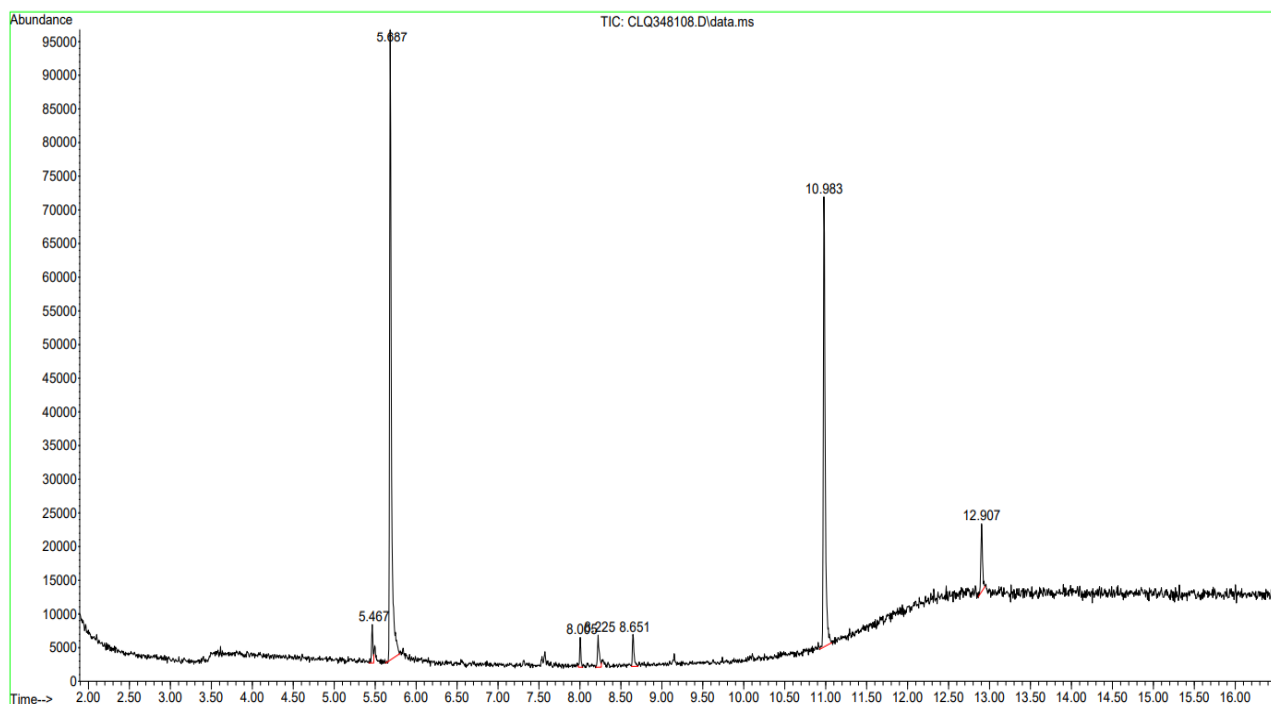


Рис.1. Газова хромато-мас-спектрометрія (GCMS) ефірної олії з *Eremothecium ashbyi*

Отриманий LCMS-спектр відповідає даним GCMS. Проте на ньому додатково ще можна побачити незначний слід цитронелола. Незначний вміст фенілетилового спирту (2,2%) відповідає міжнародному стандарту ISO 9842:2003 «Rose Oil», майже 50% олії складає монотерпеновий спирт гераніол і 36% - сесквітерпен лонгіфолен. Наявність лонгіфолену у складі ефірної олії *E.ashbyi* також підтверджується в дослідженні [9], але у значно меншій кількості.

Отже, склад отриманої ефірної олії з аскоміцету *E. ashbyi* F-340 відрізняється від складу еремотецієвої ефірної олії, отриманої іншими дослідниками [6-9]. Перевагою отриманої олії є високий вміст найціннішого компонента ефірної олії – гераніолу, що робить перспективним подальші дослідження біосинтетичної здатності штаму-продуценту.

Висновки. В даній роботі було проаналізовано можливість отримувати ефірну олію з ароматом троянди, як побічний продукт синтезу рибофлавіну, за допомогою *Eremothecium ashbyi* F-340. Встановлено склад ефірної олії: гераніол – 49,9%, лонгіфолен – 36,5%, фенілетиловий спирт – 2,2% та незначні кількості ліналоола та неролідола.

Список використаної літератури:

1. Гуринович Л.К., Пучкова Т.В. Эфирные масла: химия, технология, анализ и применение. — М.: Школа косметических химиков, 2005. — 192 с.
2. Production of flavours by microorganisms / Janssens L., De Pooter H.L., Schamp N.M., Vandamme E.J. // Process Biochemistry. – 1992. – Vol. 27. – P. 195–215.
3. You, J., Pan, X., Yang, C., Du, Y., Osire, T., Yang, T., Rao, Z. (2021). Microbial production of riboflavin: Biotechnological advances and perspectives. *Metabolic Engineering*, 68, 46–58. <https://doi.org/10.1016/j.ymben.2021.08.009>
4. Improved riboflavin production by *Eremothecium ashbyii* using glucose and yeast extract / Xin Cheng, Jia Zhou, Lin Huang, Kun-tai Li // *African Journal of Biotechnology*. – 2011. – 10, № 70. – P. 15777–15782. <https://doi.org/10.5897/ajb11.986>
5. Zhang, J.-R., Ge, Y.-Y., Liu, P.-H., Wu, D.-T., Liu, H.-Y., Li, H.-B. Gan, R.-Y. (2021). Biotechnological Strategies of Riboflavin Biosynthesis in Microbes. *Engineering*. <https://doi.org/10.1016/j.eng.2021.03.018>
6. Semenova E. F. About essential oils biotechnology on the base of microbial synthesis / E. F. Semenova, A. I. Shpichka, I. Ya. Moiseeva // *European Journal Of Natural History*. – 2012. – № 4. – P. 29–31.
7. Semenova E. F. About explanation of elaboration of essential *Eremothecium* oil biotechnology / E. F. Semenova, A. I. Shpichka, I. Ya. Moiseeva // *International journal of experimental education*. – 2012. – № 3. – P. 35–36.
8. Semenova E. F. Some pharmbiotechnological characteristics of *Eremothecium*, producer of riboflavin and essential oil / E. F. Semenova, A. I. Shpichka // *International journal of applied and fundamental research*. – 2012. – № 1. – P. 170–172.
9. He, F., Li, K., Zhang, X., Yang, Y., Fang, Y., Xiang, F., Components and antibacterial activity of a novel essential oil from the nutrient broth of *Eremothecium ashbyii* H4565 // *LWT - Food Science and Technology*. – 2019. – № 101. – P. 389-394. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2018.11.037>