

РОЛЬ АСКОСПОРОГЕНЕЗУ ТА ІНШИХ ФАКТОРІВ У РЕГУЛЯЦІЇ НАКОПИЧЕННЯ ЛІПІДІВ У ДРІЖДЖАХ *DEBARYOMYCES ETCHHELLSII*

Гоман Є.К.

«КПІ ім. Ігоря Сікорського», lizagoman8@gmail.com

Abstract

The article investigates and analyzes the influence of the ascosporeogenesis phase on biochemical processes related to the synthesis and accumulation of lipids in the yeast *Debaryomyces etchellsii*. Also, these yeast were analyzed for their biotechnological potential in lipid accumulation and through a literature review, the factors affecting the synthesis of lipids by this type of yeast were studied. This research is useful for the development of biodiesel based on microbial lipids.

Keywords: *Debaryomyces etchellsii*, ascosporeogenesis, lipid accumulation.

Вступ. В останні роки відбувається значне підвищення попиту на паливо, обумовлене економічним зростанням і технічним прогресом. Зростаюча занепокоєність через кліматичні зміни підштовхує до пошуку екологічно чистих джерел енергії. Одним із потенційних рішень є використання ліпідів, які накопичуються в олійних грибах. Відомо, що ці гриби можуть містити від 20% до 80% ліпідів від своєї сухої біомаси [1]. Тому актуальність даної теми не викликає сумнівів та потребує подальшого вивчення. Основні напрямки досліджень, пов'язаних з накопиченням ліпідів у мікроорганізмах, базуються на встановленні впливу екзогенних факторів та оптимізації культуральних умов, які визначають метаболічні процеси ліпідного накопичення. Розуміння цих процесів важливе для подальшого вдосконалення методів вирощування мікроорганізмів для виробництва жирних кислот та ліпідів з ціллю отримати біопаливо.

Метою нашої роботи є аналіз впливу фази аскоспорогенезу та інших факторів (рН, температури, осмотичного тиску та ін.) на біохімічні процеси, пов'язані із синтезом та накопиченням ліпідів у дріжджах роду *Debaryomyces*, зокрема *D. etchellsii*.

Матеріали та методи. Аналітичний огляд наукових джерел з питання вивчення ролі аскоспорогенезу та інших факторів у регуляції накопичення ліпідів у дріжджах *Debaryomyces etchellsii*.

Результати та обговорення. Дослідженням дріжджів *D. etchellsii* займалися різні вчені, зокрема В. Прафайлонг, Г.Х. Флот, Ф. Аруса, Т. Мечічіа. Їх праці включають аналіз теоретичних та практичних даних, які мають важливе значення для аналізу біохімічних процесів, пов'язаних із синтезом та накопиченням ліпідів. Дослідження дріжджів *Debaryomyces* включає різні методи, спрямовані на вивчення їхньої фізіології і генетики. Основними з них є ізоляція та культивування, мікроскопія, методи аналітичної хімії та експериментальні моделі.

Характеристики зростання дріжджів, накопичення ліпідів і складу ліпідної фракції протягом життєвого циклу дріжджів роду *Debaryomyces* вивчали в умовах обмеження азоту, зміни джерела вуглецю, температури, рН, режиму культивування тощо.

На фоні соціальних конфліктів, викликаних конкуренцією за постачання їжі та орні землі, виробництво біодизеля з олії рослин, що потребують великих площ для насаджень, стає проблематичним. Тому біодизель, отриманий з мікробних

ліпідів, може стати ідеальною заміною традиційного палива, оскільки він вважається відносно екологічно чистим, продуценти швидше ростуть та не потребують вилучення земель під технічні культури [1].

Усі мікроорганізми здатні синтезувати ліпіди, тоді як лише олійні штами можуть накопичувати значну їх кількість. Порівняно з іншими продуцентами, ліпіди, що синтезуються дріжджами, мають вищий вміст мононенасичених та насичених жирних кислот. Це робить їх ідеальними для використання в процесі виробництва біодизеля. Крім цього, у дріжджів також спостерігається високий вміст триацилгліцеридів, що також сприяє підвищенню ефективності перетворення їх у біопаливо.

D.etchellsii є одним із відомих видів *Debaryomyces*. Ці дріжджі можна зустріти під різними назвами: *Schwanniomyces etchellsii*, *Pichia etchellsii*, *Torulasporea etchellsii*, *Kloeckera faecalis* і *Pichia faecalis* [2]. Живуть вони в багатьох середовищах, таких як ґрунт, овочі, харчові продукти та рідше в клінічних зразках біоматеріалів [2,3].

Групами різних вчених було проведено кілька експериментів з культурами на середовищах з обмеженим вмістом азоту, в яких глюкоза використовувалася як єдине джерело вуглецю з вмістом 50 г/дм³. Результати експериментів показали, що протягом перших 48 годин дріжджі одночасно споживали цукор і азот і активно зростали внаслідок процесу брунькування, швидко збільшуючи суху масу клітин. За збалансованих умов росту *D.etchellsii*, що розмножується безстатевим способом шляхом брунькування, виробляє понад 7 г/дм³ біомаси, що містить, однак, низьку кількість ліпідів, які багаті олеїновою та лінолевою кислотами. Після повного виснаження джерела азоту в середовищі росту відбувався перехід до статевій стадії життєвого циклу і спостерігалася поява великої кількості асків з аскоспорами. На цій стадії припинявся ріст дріжджів та індукувався синтез ліпідів. У результаті аскоспорогенезу відбулося значне збільшення вмісту клітинних ліпідів, тобто від масової частки 11,9% у вегетативній фазі до 22,4% у аскоспорогенній фазі [3].

Проте, для оцінки можливості використання грибних олій для виробництва біодизеля важливе не лише збільшення вмісту ліпідів, а й їх якісний склад. Ненасичені зв'язки у молекулах жирних кислот прискорюють автоокиснення, понижуючи стабільність біодизеля. Як показали дослідження [4], культивування дріжджів за низьких температур збільшує кількість поліненасичених жирних кислот у жирі, що може бути стратегією адаптації до холоду. Індекс ненасиченості олій також підвищується. Тому з метою подальшого виготовлення біопалива оптимальним є культивування в межах 25-30°C, а вибір конкретної температури залежить від виду мікроорганізму. Щодо *Debaryomyces* – оптимумом є значення 30°C [4,5].

Профілі жирних кислот у ліпідах дріжджів можуть значно відрізнятись залежно від різних факторів. Ці фактори включають не тільки тип фази росту та температуру, але й склад культурального середовища (наприклад, джерело вуглецю), рН та багато інших.

Зроблені дослідження Паолою Діас-Наваретте та її колегами [4] продемонстрували, що найвищий приріст біомаси *Debaryomyces* спостерігався за рН 4, натомість продуктивність синтезу ліпідів зростала за рН 7, що вказує на важливість корегування рН на різних етапах культивування. Крім того, в процесі синтезу ліпідів рН середовищ нерідко зростає внаслідок метаболізму мікроорганізмів, що теж сприяє більшому їх накопиченню.

Щодо джерела вуглецю, то численні дослідження, проведені для різних видів дріжджів, показали, що вони здатні рости на глюкозі, лактозі, гліцеролі чи інших вуглеводах [4,5]. Проте найвищий приріст біомаси та показники накопичення ліпідів спостерігали у разі використання цукрів, зокрема глюкози [4]. Вибір джерела повинен закрити питання утилізації органічних відходів, тож одними з кращих рішень є мелясна післяспиртова барда чи певні види стічних вод, проте слід зважати, що залежно від регіону та інших факторів склад таких середовищ мінливий. Тому варто проводити додаткові аналізи.

Висновки. Азотне голодування викликає як накопичення ліпідів, так і аскоспорогенез, і тому ці процеси корелюють в *D.etchellsii*, що може розмножуватися і безстатевим шляхом за допомогою бруньок, і статевим шляхом за допомогою аскоспор. В умовах обмеження вмісту азоту близько 22% масової частки ліпідів у сухій клітинній масі накопичувалося в багатій на аскоспори клітинній масі, що свідчить про те, що аскоспори, що виробляються в багатих вуглецем середовищах, мають тенденцію до накопичення ліпідів.

Температура та рН середовища також мають значний вплив на накопичення ліпідів у дріжджів *Debaryomyces*. Оптимальна температура культивування для максимізації вмісту ліпідів складає приблизно 30°C, тоді як рН впливає на процеси синтезу ліпідів та може бути оптимальним за значення близько 7. Ці параметри, як і джерело вуглецю, є не менш важливі, оскільки вони впливають на якість та кількість синтезованих ліпідів. Отже, мікробні ліпіди мають великий потенціал у виробництві біодизеля. Для їх ефективного використання важливо досліджувати та оптимізувати умови культивування для отримання продукту високої якості.

Список використаної літератури:

1. Casadevall, A., & Zaragoza, O. Encyclopedia of Mycology. Elsevier. 2021. Vol. 2, No 1. P. 577-589.
2. C.P. Kurtzman, J.W. Fell, T. Boekhout, The Yeasts: a Taxonomic Study, fifth ed., Elsevier Science BV, Amsterdam, 2011.
3. Lipid accumulation in the new oleaginous yeast *Debaryomyces etchellsii* correlates with ascosporeogenesis / F. Arous et al. Biomass and Bioenergy. 2015. Vol. 80. P. 307–315. URL: <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2015.06.019> (Дата звернення: 23.04.2024).
4. Díaz-Navarrete, P.; Marileo, L.; Madrid, H.; Belezaca-Pinargote, C.; Dantagnan, P. Lipid Production from Native Oleaginous Yeasts Isolated from Southern Chilean Soil Cultivated in Industrial Vinasse Residues. Microorganisms 2023, 11, 2516. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11102516> (Дата звернення: 23.04.2024)
5. Gientka I, Kieliszek M, Jermacz K, Błażej S. Identification and Characterization of Oleaginous Yeast Isolated from Kefir and Its Ability to Accumulate Intracellular Fats in Deproteinized Potato Wastewater with Different Carbon Sources. Biomed Res Int. 2017. doi: 10.1155/2017/6061042. (Дата звернення: 23.04.2024)