

УДК 579.66

Поступила в редакцию 23.09.2019
Received 23.09.2019**А. В. Савчик, Г. И. Новик***Институт микробиологии Национальной академии наук Беларуси, г. Минск, Республика Беларусь***КАРОТИНОИДСИНТЕЗИРУЮЩИЕ ДРОЖЖЕВЫЕ ГРИБЫ И ИХ ПРИМЕНЕНИЕ В БИОТЕХНОЛОГИИ (ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ)**

Аннотация. Обзор литературы посвящен каротиноидсинтезирующим дрожжам. Приведена информация о функциях каротиноидов и их применении в промышленности, способах получения штаммов дрожжей с гиперпродукцией каротиноидов, факторах, влияющих на продукцию пигментов дрожжами.

Ключевые слова: дрожжи, каротиноиды, продукция пигментов

A. V. Savchik, G. I. Novik*Institute of Microbiology, NAS of Belarus, Minsk, Republic of Belarus***CAROTENE-PRODUCING YEAST-LIKE FUNGI AND THEIR APPLICATION IN BIOTECHNOLOGIAIA SURVEY**

Abstract. This review is devoted to carotenogenic yeasts. The data have been presented on function and industrial application of carotenoids, methods of selecting yeast strains hyperproducers of carotenoids, factors influencing pigment synthesis by yeast cultures.

Keywords: yeast, carotenoids, pigment production

Введение. В настоящее время микробиологический синтез, т.е. синтез различных биологически активных веществ (БАВ) с помощью микроорганизмов, является основой большинства биотехнологических процессов. В качестве объектов биотехнологии микробного синтеза широкое применение получили бактерии, мицелиальные грибы, дрожжи и микроскопические водоросли.

С экономической и экологической точек зрения, лучшими продуцентами БАВ являются дрожжи, поскольку они обладают некоторыми преимуществами по сравнению с другими объектами биотехнологии. Дрожжевые грибы характеризуются высокой скоростью накопления биомассы [1–4], способностью расти на относительно дешевых средах, в том числе на побочных продуктах сельскохозяйственной и пищевой промышленности, что значительно снижает затраты на производство биологически активных веществ [5–8]. Дрожжи усваивают широкий спектр источников углеродного питания, устойчивы к контаминации посторонней микрофлорой, не загрязняют воздух спорами, клетки дрожжей легко отделяются от культуральной жидкости [1]. В промышленных условиях культивирование дрожжей не вызывает особых затруднений, что определяет возможность автоматизировать процессы производства [1, 3].

Для сравнения — использование растений, как источников БАВ, связано с такими трудностями, как сезонные и географические факторы [9–12]. Кроме того, крупномасштабное производство дрожжей в ферментерах значительно удобнее, чем микроводорослей и мицелиальных грибов, за счет их одноклеточной структуры и высокой скорости роста [13]. В отличие от бактерий, дрожжи, как микробиологические объекты, более безопасны и достаточно удобны с точки зрения выполнения генетических манипуляций в системе хозяин-вектор [7].

Использование дрожжей в биотехнологии. Дрожжи — важные продуценты органических кислот и сахароспиртов. В биотехнологических процессах для получения многих промышленно ценных веществ в качестве продуцентов используются дрожжи. Разработаны технологии получения органических кислот, таких как лимонная кислота, продуцентами которой являются дрожжи вида *Yarrowia lipolytica*, изолимонная кислота — продуценты дрожжи вида *Candida catenulata*, фумаровая кислота — проду-

центы дрожжи вида *Candida hydrocarbofumarica*, яблочная кислота — продуценты дрожжи вида *Pichia membranaefaciens* и др. В пищевой промышленности широко используются в качестве пищевых добавок многоатомные спирты: глицерин (E422), ксилит (E967) и эритрит (E968). Для получения этих продуктов применяются ксеротолерантные дрожжевые грибы рода *Zygosaccharomyces*, а также дрожжи *Pachysolen tannophilus*.

Получение ферментных препаратов. При изготовлении пива из дрожжевого осадка (отход пивоварения) получают ферментный препарат инвертазы (β -фруктофуранозидазы (КФ 3.2.1.26)), который используется для изготовления сахарных (инвертных) сиропов, а в кондитерской промышленности для предотвращения кристаллизации сахарозы [1]. Другим важным ферментом является β -галактозидаза (КФ 3.2.1.23), продуцентом которой выступают дрожжи *Kluyveromyces marxianus*. Этот фермент играет важную роль в молочной промышленности для получения питьевого молока с гидролизованным молочным сахаром. Такое молоко может употребляться людьми, страдающими непереносимостью лактозы [14]. Получение липолитических ферментов из дрожжевых грибов (например, *Yarrowia lipolytica*) играет особую роль в биотехнологии, поскольку липазы представляют интерес для многих отраслей промышленности: косметической, химической (используются в производстве моющих средств), пищевой (применяются в сыроварении) и др. Кроме того, дрожжи являются продуцентами многих ферментов: пектиназы (*Saccharomycopsis fibuliger*), амилазы (*Schwanniomyces occidentalis*), алкогольоксидазы (КФ 1.1.3.13) (*Pichiaburtonii*), фенилаланинаммиаклиазы (*Rhodotorula glutinis*) и др. [1].

Производство биоэтанола. Дрожжи, которые способны сбраживать источники углеводов, являются перспективными продуцентами этанола. Биоэтанол используют в качестве экологически чистого топлива (крупномасштабное получение биоэтанола осуществляется в США и Бразилии), а также в качестве сырья для химической промышленности. Для получения этанола источником углеводов является сахарный тростник и маниока, продуцентами выступают дрожжи вида *Saccharomyces cerevisiae*. Также перспективным сырьем для производства этанола являются отходы целлюлозно-бумажной и деревообрабатывающей промышленности. Поскольку гидролизаты древесины содержат большое количество пентоз, в роли продуцентов используются дрожжи *Pachysolentannophilus* и *Candida shehatae*, способные сбраживать эти углеводы. В небольших количествах этанол получают из молочной сыворотки, в качестве продуцентов выступают сбраживающие лактозу дрожжи рода *Kluyveromyces* [1, 15].

Получение дрожжевых полисахаридов. Одной из особенностей дрожжей является способность к образованию ценных и малотоксичных внеклеточных полисахаридов. Наиболее широко используемыми дрожжевыми продуцентами внеклеточных полисахаридов являются дрожжи родов *Cryptococcus*, *Lipomyces*, *Saccharomyces* и *Rhodotorula* [16]. Полисахариды этих дрожжей могут быть представлены маннозой, ксилозой, глюкуроновой кислотой, глюкозой, фруктозой, галактозой [16, 17].

Активно разрабатываются препараты внеклеточных полисахаридов на основе дрожжей для использования их в качестве кормовых добавок и биопрепаратов, применяемых для профилактики микотоксикозов в животноводстве и птицеводстве [16]. Известны биопрепараты «Микробонд» (США, Cenzone) и Микосорб А+ (США, Alltech), содержащие полисахариды дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Данные препараты устраняют негативное воздействие широкого спектра микотоксинов на организм животного. Применение биопрепаратов способствует подавлению роста условно-патогенных микроорганизмов, восстановлению микробиоценоза кишечника и повышению продуктивности животных [18, 19].

Экзополисахариды дрожжевого происхождения нашли широкое применение в медицине. Дрожжевые полисахариды обладают биологической активностью (иммуностимулирующая, радиопротекторная и противоопухолевая активности) [17], повышают устойчивость организма к бактериальным и вирусным инфекциям, снижают побочное действие лекарственных препаратов, участвуют в регенерации тканей, способствуют заживлению ран, влияют на защитные реакции организма. Преимуществом препаратов на основе полисахаридов является их низкая токсичность и отсутствие примесей, оказывающих негативное воздействие на организм [20]. Биопрепарат «Зимозан А» (США, Sigma Aldrich) содержит полисахариды (глюкан, глюкоманнан) дрожжей *Saccharomyces cerevisiae*. Препарат нормализует ряд иммунобиологических реакций, ослабляет угнетающее влияние противоопухолевых лекарственных препаратов, а также эффекты воздействия рентгеновских лучей и цитостатических веществ на гемопоэз [21]. Обнаружено, что сульфатированный маннан фракции внеклеточных полисахаридов *Rhodotorula rubra* снижает уровень холестерина и триглицеридов в крови, препятствует перекисному окислению и может использоваться для профилактики и лечения атеросклероза [20].

Внеклеточный полисахарид пуллулан, состоящий из мальтотриозных единиц и синтезируемый дрожжеподобным грибом *Aureobasidium pullulans* активно используется в пищевой промышленности в качестве пленочного покрытия, например, для защиты от высыхания и плесневения сыров [1]. Кроме того, внеклеточные полисахариды дрожжей используются в качестве стабилизаторов мороженого, фруктовых соков, загустителей сиропов, джемов, подливок, желе. Экзополисахариды дрожжей родов *Cryptococcus* и *Saccharomyces* используются для улучшения качества хлеба. Добавление полисахаридов дрожжей в муку повышает газодерживающую способность теста, а хлеб, выпеченный из такого теста, медленнее черствеет и отличается хорошей пористостью.

Производство белковых кормовых добавок на основе дрожжей. В биотехнологическом производстве для получения белковых кормовых добавок чаще всего используют дрожжи. Такое предпочтение связано с тем, что у некоторых штаммов дрожжей содержание белка может достигать от половины до 2/3 от сухой массы, а процент незаменимых аминокислот в клетках — до 10 % [1]. Выявлено, что добавление белковых кормовых добавок на основе дрожжей в рацион лактирующих коров позволяет обеспечить животных более полноценными протеинами, снизить количество концентратов в рационе и оптимизировать уровень белкового обмена [22].

Дрожжи — ассимилянты нефти. Культуры дрожжей из рода *Candida* (*C. lipolitica*, *C. guilliermondii*) служат наиболее продуктивными ассимилянтами нефти и нефтепродуктов. Российскими производителями разработан биопрепарат на основе дрожжей — «Олеоворин», ООО «Бигор Биотехнологичес». В данном случае источником углеводов для дрожжей являются парафины нефти. В результате использования дрожжей этого рода получают биомассу с высоким содержанием белка и витаминов [1, 23].

Применение в медицине. Дрожжи используются для получения некоторых лекарственных препаратов и биологически активных добавок. На основе дрожжей *Saccharomyces boulardii* создан ряд препаратов — «Энтерол», «DiarSafe», «Florastor» (Франция, Biocodex), поддерживающих и восстанавливающих флору желудочно-кишечного тракта. Одним из перспективных направлений в биотехнологии является использование дрожжей для получения витаминов. В этом направлении первыми были использованы дрожжи *Saccharomyces cerevisiae* для выделения эргостерина с последующей его обработкой ультрафиолетом, в результате чего получили витамин D. Для получения рибофлавина (витамин группы В) активно используются флавиногенные дрожжи, способные к синтезу рибофлавина: *Candida famata* и *Candida guilliermondii* [1, 50].

Красные дрожжи как продуценты каротиноидов. Большой интерес для научных исследований представляют красные дрожжи, синтезирующие каротиноиды. Наиболее изученными из них и часто используемыми для получения пигментов (β-каротина, торулена и торулародина) являются дрожжи рода *Rhodotorula* [24–28], а наилучшим продуцентом астаксантина (сильный антиоксидант) — дрожжи *Xanthophyllomyces* [29–32]. Кроме того, к перспективным для получения каротиноидов микробиологическим синтезом относятся дрожжи родов *Rhodospiridium* [4, 24, 33, 34], *Cryptococcus* [24, 25, 35], *Sporobolomyces* [7, 10, 27, 33], *Sporidiobolus* [4, 35], *Stigmatomyces* [35]. Красные дрожжи способны к синтезу широкого спектра каротиноидов: α-каротин [3, 31, 36], β-каротин (предшественник витамина А) [1, 7, 37, 38], γ-каротин [4, 27, 39], торулен [8, 24, 40], торулародин [7, 12, 34, 37], астаксантин [13, 29, 36], лютеин [4, 11, 36, 41], зеаксантин [4, 35, 40], ликопин [3, 35, 36, 39], фитоин [24, 35, 39], β-криптоксантин [4, 31, 35], виолоксантин, флавоксантин [35], нейроспорин [24, 35]. Причем для определенного вида дрожжей характерен свой набор каротиноидных пигментов как в качественном, так и в количественном соотношении.

Мировой рынок каротиноидов. С каждым годом наблюдается все больший рост мирового производства каротиноидов из-за их широкого применения в различных областях. Наибольшая доля мирового производства пигментов принадлежит производству β-каротина, лютеина и астаксантина, при чем ежегодно наблюдается увеличение показателя GACR (среднегодовой темп роста) (табл. 1).

Таблица 1. Мировой рынок производства основных каротиноидов в 2010 и 2018 годах
Table 1. The global market for the production of basic carotenoids in 2010 and 2018

Каротиноиды	2010 год	2018 год	CAGR*
β-каротин	261 млн \$	334 млн \$	> 3,1 %
Лютеин	233 млн \$	309 млн \$	> 3,6 %
Астаксантин	226 млн \$	253 млн \$	> 1,4 %

* GACR — среднегодовой темп роста

Наблюдается также увеличение производства таких каротиноидов, как кантаксантин, ликопен, β -апокаротинал, зеаксантин и др. (рис. 1).

Мировой рынок каротиноидов в 2010 г. составил около 1,2 млрд \$, а в 2018 г. уже более 1,5 млрд \$, при этом показатель среднегодового темпа роста GACR увеличился на 2,4 % [42].

Прогнозируется, что мировой рынок каротиноидов к 2023–2025 гг. будет составлять более 2 млрд \$. При этом основной рынок производства каротиноидов сконцентрирован в Северной Америке и Европе, и в меньшей мере развит в Азии. Крупнейшими компаниями-производителями каротиноидов являются BASF SE (Германия), Döhler Group (Германия), Koninklijke DSM N.V. (Нидерланды), Chr. Hansen A/S (Дания), FMC Corporation (Филадельфия, США), Cyanotech Corporation (Гавайи, США), Kemin Industries Inc. (Де-Мойна, США), DDW The Colour House (Льюисвилл, США), Allied Biotech Corporation (Германия, Дания, Тайвань, Китай и Бразилия) и Excelsvite (Малайзия) [43, 44].

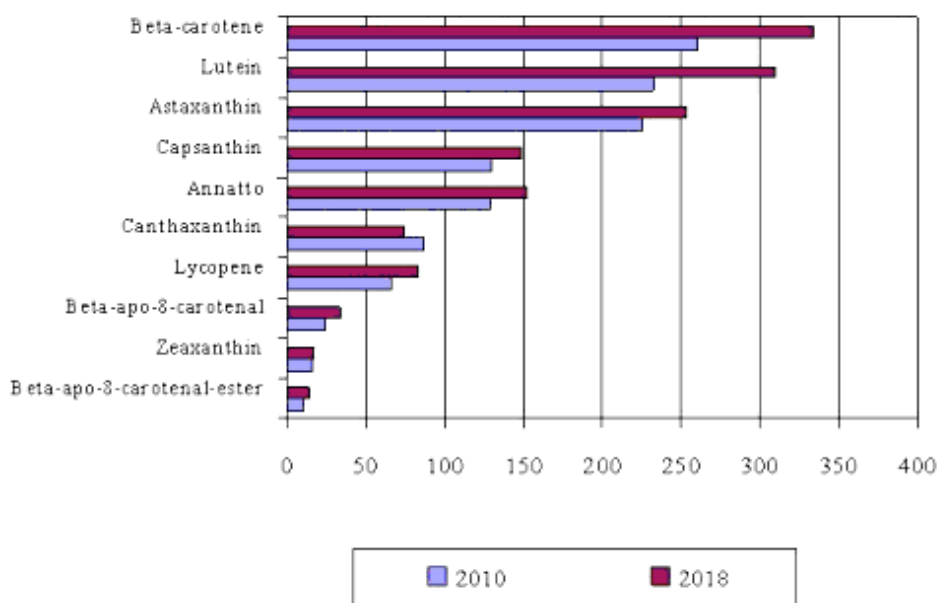


Рис. 1. Мировой рынок производства каротиноидов в 2010 и 2018 годах (млн \$)

Fig 1. The global market for the production of carotenoids in 2010 and 2018 (million \$)

Характеристика каротиноидов. Каротиноиды — наиболее многочисленная и распространенная группа природных жирорастворимых пигментов. Каротиноиды синтезируют высшие растения, водоросли и некоторые лишайники, а также бактерии и мицелиальные грибы [10, 45–47]. В организме человека и животных (млекопитающих, морских и пресноводных беспозвоночных, а также птиц и насекомых) также присутствуют каротиноиды, но пигменты поступают только с пищей и являются незаменимыми, поскольку организмом *denovo* не синтезируются [30, 41, 45, 47]. Усвоение каротиноидов происходит в тонком кишечнике, где пигменты могут либо окисляться, либо метаболизироваться (например, β -каротин в витамин А) [41, 46, 47]. Усвоение каротиноидов в организме человека без биотрансформации приводит к включению пигментов в состав липопротеинов, после чего они транспортируются в жировую ткань, печень, надпочечники, яичники и другие органы [36].

В настоящее время, обнаружено и изучено более 700 различных каротиноидов [3, 4]. Эти пигменты в природе встречаются в различной форме: в виде эфиров длинноцепочечных жирных кислот, например, в хроматофорах и эпидермальных структурах растений, в свободной форме — в пластидах растений, мышечной ткани рыб, яйцах птиц, а также могут входить в состав каротин-белковых комплексов — в эпидермальных тканях животных и т.д. [41, 46].

По химической природе каротиноиды относятся к соединениям терпенового ряда — природные органические соединения, углеродный скелет которых состоит из изопреновых звеньев [4, 41]. К соединениям терпенового ряда также относятся фитогармоны, сердечные гликозиды, стероиды, эфирные масла, млечный сок, жирорастворимые витамины [41]. Каротиноиды содержат восемь изопреновых остатков, состоящих из 40 атомов углерода. Отличием каротиноидов от других природных соединений является наличие хромофора, который содержит конъюгированные двойные связи.

От количества сопряженных двойных связей зависит наличие окраски и ее интенсивность [4, 46]. Кроме того, наличие этих связей придает каротиноидам характерную для них высокую лабильность (чувствительность) к таким факторам, как воздействие солнечного света, щелочей и кислот, кислорода воздуха и нагревание, а также к реакциям окисления и изомеризации [4, 36, 41]. Способность пигментов к окислению определяет их высокую антиоксидантную функцию, что имеет большое значение для животных и человека. Также каротиноиды могут приобретать высокую стабильность, входя в состав протеиновых комплексов [36, 41].

Каротиноиды подразделяют на 2 группы в зависимости от степени поглощения света. Первая группа — каротины (углеводороды) — бескислородные оранжевые пигменты. Наиболее известный представитель этой группы β -каротин. Вторая группа — ксантофилы — пигменты, имеющие окраску от желтого до красного цвета и содержащие в своем составе кислород (зеаксантин, лютеин и др.) [3, 41].

Функции и применение каротиноидов. Функции каротиноидов очень разнообразны. Они способны ослаблять результат воздействия ионизирующего и ультрафиолетового излучения (радиопротекторные свойства) [3, 39, 45], усиливать аппетит [45], укреплять иммунитет [8, 30, 33, 41], поддерживать стабильность генома [41] и устойчивость к мутагенезу [38, 41], защищать чувствительные ткани от окисления (антиоксидантные свойства) [12, 31, 48, 49], замедлять рост опухолевых клеток [8, 39, 45], увеличивать цитостатическую активность Т-киллеров, ускорять репарацию тканей [41, 45]. Обнаружено, что низкое содержание β -каротина и других каротиноидов (лютеин, зеаксантин) в организме человека повышает риск возникновения сердечно-сосудистых заболеваний [7, 33, 41, 49], инсульта [49], катаракты [4, 33, 39], рака (молочной железы, пищевода и др.) [39, 41, 45, 49] и дегенерации желтого пятна [7, 33, 41]. Показано, что потребление ликопина снижает риск возникновения сердечной недостаточности и рака простаты [4]. Такой эффект обусловлен возможностью антиоксидантов предотвращать окислительное повреждение, которое участвует в патофизиологии многих хронических заболеваний [4, 7, 49]. Каротиноиды могут принимать участие в ионном обмене, перекисном окислении липидов и адаптации к гипоксии (совместно с миоглобином они образуют внутриклеточную систему депонирования кислорода) [47].

Важнейшей функцией каротиноидов является про-А-витаминная активность [8, 12, 39, 41], которой обладает около 10 % из известных каротиноидов. Витамин А играет важное значение как для человека, так и для животных. Он необходим для нормального функционирования кожи и слизистых [45], для защиты от разного рода бактериальных и грибковых инфекций [41, 45, 47], незаменим для зрения, роста и репродукции [45]. Кроме того, отмечено ингибирующее действие витамина А на развитие злокачественных новообразований [10, 47]. Помимо этого, витамин А оказывает антистрессовое воздействие на организм [47].

Было установлено, что применение каротиноидных препаратов в течение нескольких недель повышает защиту организма от фотостарения и солнечных ожогов [7].

Большое внимание к каротиноидам обусловлено их широким применением в различных областях:

- ♦ в сельском хозяйстве каротиноиды используются в качестве кормовой добавки, что особенно распространено в птицеводстве и аквакультуре рыб;
- ♦ в фармацевтической промышленности для изготовления лекарственных препаратов и в косметологии;
- ♦ в пищевой промышленности каротиноиды используются как пищевая добавка при производстве хлеба, масла, маргарина и других продуктов, а также в качестве красителей для вареных колбас, безалкогольных напитков, выпечки и др. [13, 31, 33, 48]. Возрастание популярности использования натуральных пищевых красителей обусловлено их большей безопасностью, в отличие от химических красителей [30, 34]. Известно, что чрезмерное потребление синтетических пигментов может вызвать аллергические реакции, астму, рак, повреждение почек, печени и желудочно-кишечного тракта из-за их токсичности [4, 30].

На данный момент лекарственные препараты, пищевые и кормовые добавки, содержащие каротиноиды, приобретают все большее распространение и применение по всему миру и, в особенности, во Вьетнаме [38]. Поэтому поиск наиболее перспективных штаммов каротиноидсинтезирующих дрожжей, для получения на их основе биопрепаратов является актуальной задачей биотехнологии.

Биосинтез каротиноидов. В промышленном масштабе для получения каротиноидов микробиологическим путем с использованием дрожжевых грибов основное внимание уделяется поиску высокопродуктивных штаммов дрожжей. Кроме того, необходимо знать, каким образом у дрожжей происходит биосинтез каротиноидов. Это позволяет автоматизировать процесс биосинтеза пигментов, а также увеличить их продукцию.

Биосинтез каротиноидов у дрожжевых грибов начинается в поздней логарифмической фазе и продолжается в стационарной фазе, и включает в себя три основных этапа:

1. Синтез каротиноидов начинается с превращения ацетил-КоА в 3-гидрокси-3-метилглутарил-КоА (HMG-КоА). Катализатором данной реакции выступает HMG-КоА-синтаза (КФ 4.1.3.5). Затем, HMG-КоА под действием специфической редуктазы превращается в мевалоновую кислоту (первый предшественник пути биосинтеза соединений терпенового ряда). Мевалоновая кислота фосфорилируется фосфомевалонаткиназой (КФ 2.7.4.2) и декарбоксилируется мевалонат-5-пирофосфатдекарбоксилазой (КФ 4.1.1.99) с образованием изопентил-5-пирофосфата (IPP).

2. IPP изомеризуется (фермент — изопентилпирофосфат изомераза (КФ 5.3.3.2)) в диметилаллилпирофосфат (DMAPP) с добавлением трех молекул IPP к DMAPP. Под действием фермента пренилтрансферазы DMAPP превращается в геранилгеранилпирофосфат (GGPP) (КФ 2.5.1.102), который содержит 20 атомов углерода. Конденсация двух молекул GGPP катализируется фитоинсинтазой (КФ 2.5.1.32) и сопровождается образованием фитоена (содержит 40 атомов углерода). Далее в результате действия фитоен-десатуразы (КФ 1.3.99.28) образуется нейроспорин. Нейроспорин может быть трансформирован в ликопин или β -зеакаротин. Последний может образовываться в клетке либо из-за присутствия ингибиторов (например, дифениламина), либо за счет стресс-факторов окружающей среды.

3. В результате циклизации ликопина либо дегидрирования β -зеакаротина образуется γ -каротин. В свою очередь, β -каротин — в результате циклизации γ -каротина (катализатор — β -ликопенциклаза (КФ 5.5.1.19)). Подвергаясь различным реакциям, из ликопина образуются другие каротиноиды: атаксантин, турулен, турулародин и т.д. [7, 39, 52].

Такие каротиноиды как β -каротин, лютеин, атаксантин, а также турулен и турулародин имеют большое промышленное значение за счет их широкого применения и наличия ярко выраженных антиоксидантных свойств. Поэтому с экономической точки зрения широкомасштабное промышленное производство биопрепаратов этих каротиноидов наиболее целесообразно [7, 33, 35, 37].

Факторы, влияющие на продукцию каротиноидов дрожжами. Производство дрожжевых каротиноидов в промышленных масштабах должно предусматривать использование энерго- и ресурсосберегающих технологий и экологичность их получения, а также высокий выход как биомассы дрожжей, так и целевого продукта [7]. Поэтому ведется поиск и направленная селекция штаммов дрожжей с высоким уровнем продукции и хорошим качеством синтезируемых пигментов. Однако на биосинтез каротиноидов у дрожжей оказывают воздействие многие факторы, которые могут как увеличить, так и снизить выход биомассы и продукцию каротиноидов. Поэтому большое значение уделяется управляемому биосинтезу каротиноидов, а именно изучению различных физических и химических факторов, позволяющих увеличить продукцию пигментов дрожжами [35].

К факторам, влияющим на продукцию каротиноидов у дрожжей, относятся:

1. *Источники углерода.* Одним из важных факторов для жизнедеятельности дрожжей и, соответственно, для активной продукции метаболитов является наличие в питательной среде доступных источников энергии (углеводов). Дрожжи способны сбраживать глюкозу [7, 33, 38], ксилозу [7, 38], целлобиозу [7], сахарозу, глицерин [7, 38], сорбит [7], фруктозу, маннозу [33], маннит [48]. Кроме того, известно, что наличие в питательной среде витаминов влияет на сбраживание углеводов и, соответственно, на выход биомассы дрожжей и каротиноидов [7, 33]. Например, установлено, что добавление в среду витаминов B_1 , B_{10} и биотина (витамин B_7) при культивировании дрожжей *Rhodotorula gracilis* приводило к увеличению биомассы этих дрожжей [26].

Для культивирования каротиноидсинтезирующих дрожжей можно использовать коммерческие среды, содержащие источники углерода, однако такие среды имеют высокую стоимость [7]. Основными задачами биотехнологии производства БАВ являются: удешевление стоимости эффективных источников сырья и утилизация отходов переработки пищевых производств и побочных продуктов сельского хозяйства, которые загрязняют воду и окружающую среду. Для решения этих двух проблем в качестве субстрата для культивирования каротиноидсинтезирующих дрожжей может быть использовано вторичное сырье (растительные отходы различных производств) [3–6, 31]. Так, например, исследования показали, что при культивировании каротин синтезирующих дрожжей *Rhodotorula gracilis* хорошими источниками сырья явились экстракты виноградных, томатных и яблочных выжимок. Эти растительные экстракты богаты как сахарами, так и витаминами PP и E. На всех исследуемых источниках сырья, дрожжи активно росли с увеличением уровня накопления биомассы на 45–104 %, при этом продукция каротиноидов увеличилась на 24–55 %. Это свидетельствует о том, что данные растительные экстракты могут служить дополнительными компонентами питательных сред для культивирования красных дрожжей и повышения биосинтеза каротиноидов [35] (табл. 2).

Таблица 2. Использование различных агропромышленных отходов в качестве сырья для приготовления питательных сред для повышения биосинтеза каротиноидов*
Table 2. The use of various agricultural wastes as raw materials for the preparation of culture media to enhance the biosynthesis of carotenoids*

Сырье	Штамм дрожжей	Количество каротиноидов
Экстракт виноградных выжимок	<i>Rhodotorula gracilis</i>	~685 µg/g сухого вещества
Экстракт томатных выжимок	<i>Rhodotorula gracilis</i>	624 µg/g сухого вещества
Экстракт яблочных выжимок	<i>Rhodotorula gracilis</i>	~550 µg/g сухого вещества
Кислотный гидролизат клубней топинамбура	<i>Rhodotorula rubra</i>	545 µg/l
Свекловичная меласса	<i>Rhodotorula rubra</i>	507 µg/l
Кукурузный сироп	<i>Rhodotorula glutinis</i> var. <i>glutinis</i>	367 µg/g
Пивное сусло	<i>Rhodotorula glutinis</i>	~151 µg/g сухого вещества

* Таблица составлена на основании данных литературы [3, 6, 35, 40].

Также в качестве субстратов для приготовления ростовых сред для культивирования дрожжей могут быть использованы экстракт торфа, гидролизат торфа, сок сахарного тростника [3, 7], патока сахарного тростника и сахарной свеклы [5–8, 38], кукурузный гидролизат, молочная сыворотка [3, 7], виноградное сусло [8, 38], отходы переработки сои, картофельная мезга [5, 6, 38], сырная сыворотка [8], пивное сусло [3] и др.

Так, сотрудниками лаборатории «Коллекции микроорганизмов» изучена продукция каротиноидов 22 культурами дрожжей рода *Rhodotorula* при культивировании на пивном сусле. Выявлено, что два штамма дрожжей *Rhodotorula glutinis* БИМ Y-158 и *Rhodotorula glutinis* БИМ Y-253 обладали повышенной продукцией каротиноидов (более 80 мкг/г). При этом максимальная продукция пигментов зарегистрирована при культивировании в пивном сусле в течение 4 сут штамма дрожжей *Rhodotorula glutinis* БИМ Y-253 и составляла ~151 мкг/г. На рис. 2 представлены колонии штаммов дрожжей *Rhodotorula glutinis* БИМ Y-158 и *Rhodotorula glutinis* БИМ Y-253, культивируемых в течение 7 сут. В процессе культивирования наблюдается увеличение интенсивности окраски колоний (от белозеленой до ярко-оранжевой), что свидетельствует об интенсификации продукции каротиноидов штаммами дрожжей в динамике развития популяций.

2. *Источники азота.* При изучении влияния источников азота на продукцию каротиноидов и биомассы дрожжей рода *Rhodotorula* получены противоречивые результаты [10, 30, 48]. Например, добавление в ростовую среду в качестве источников азота хлорида аммония или нитрата аммония с добавлением глутаминовой кислоты при культивировании одних штаммов дрожжей рода *Rhodotorula* приводит к увеличению как продукции каротиноидов, так и биомассы дрожжей, а при культивировании других штаммов, наоборот, к негативному воздействию данных соединений [10]. Литературные данные свидетельствуют, что оптимальным источником азота для культивирования дрожжей являлся нитрат натрия. Нитрат аммония при добавлении в среду культивирования не обладает выраженным стимулирующим эффектом на продукцию каротиноидов у дрожжей [11]. Также установлено, что хорошими источниками азота могут выступать: сульфат аммония [13, 40], нитрат калия [13, 48], дрожжевой экстракт [13, 30, 48], гидролизат казеиновой кислоты [11, 40], аминокислоты, такие как аланин [37], треонин [10, 37], лизин, глицин, тирозин, серин [13] и т.д. Поскольку по литературным данным нет однозначного ответа на вопрос о возможности стимуляции продукции каротиноидов и биомассы у дрожжей посредством добавления в культуральную среду дополнительных источников азота, в ходе исследований целесообразно разработать алгоритм поиска оптимальных источников азота, основанный на экспериментальном подборе.

3. *Соотношение углерода и азота (C/N) в ростовой среде.* При анализе литературных данных выявлена следующая закономерность: чем выше соотношение C/N в ростовой среде при культивировании дрожжей, тем выше продукция каротиноидов. Для разных видов дрожжей оптимальное соотношение C/N может отличаться. Исследования показали, что при соотношении C/N, равном 10:1, у дрожжей вида *Rhodotorula gracilis* наблюдался максимальный синтез каротиноидов [34]. А, например, при культивировании дрожжей *Rhodotorula sp.* оптимальное соотношение C/N составляло 32:1 и 40:1 [38]. Для вида *Rhodotorula mucilaginosa* оптимальное соотношение углерода и азота равно 5:1 [51], а при культивировании дрожжей вида *Xanthophyllomyces dendrorhous* оптимальное соотношение C/N составило 2:1 [30].

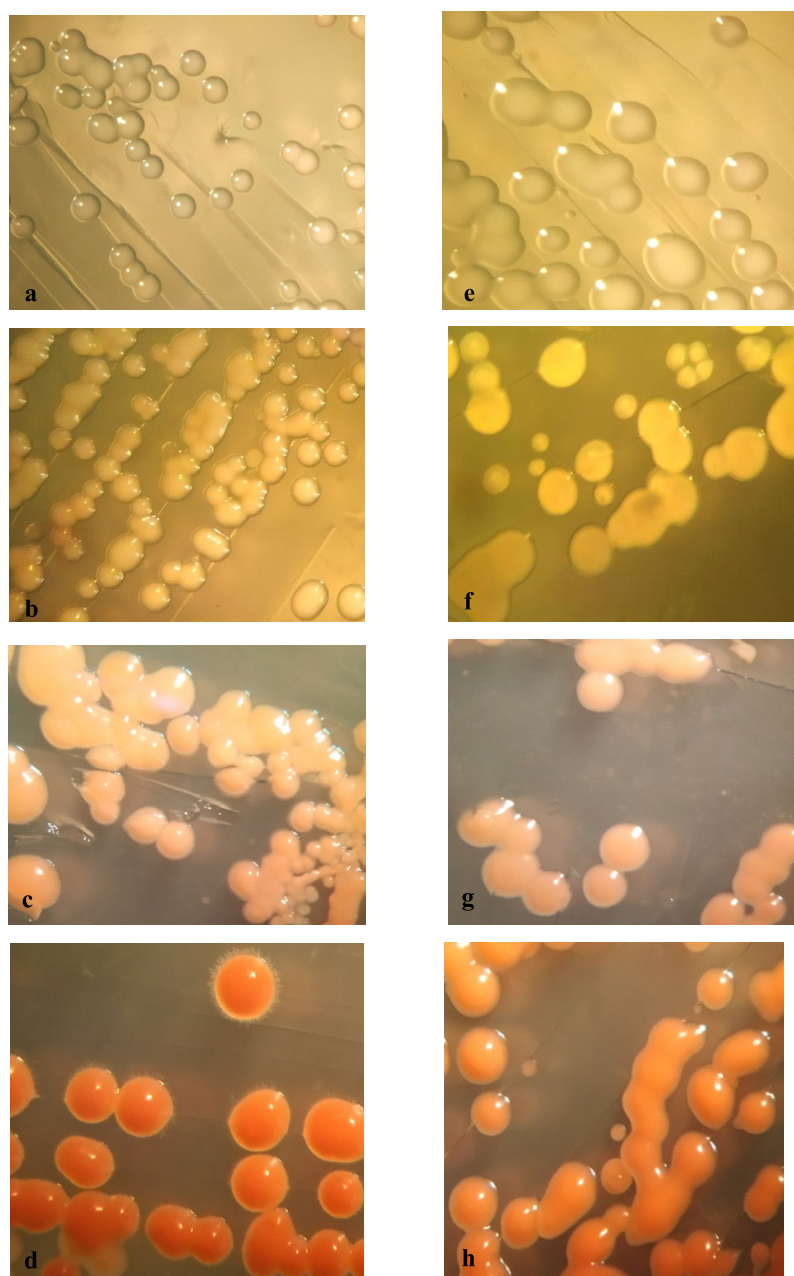


Рис. 2. Изменение интенсивности окраски колоний дрожжей: а — *R. glutinis* БИМ Y-158 на вторые сутки культивирования, б — *R. glutinis* БИМ Y-158 на третьи сутки культивирования, с — *R. glutinis* БИМ Y-158 на четвертые сутки культивирования, d — *R. glutinis* БИМ Y-158 на седьмые сутки культивирования, е — *R. glutinis* БИМ Y-253 на вторые сутки культивирования, f — *R. glutinis* БИМ Y-253 на третьи сутки культивирования, g — *R. glutinis* БИМ Y-253 на четвертые сутки культивирования, h — *R. glutinis* БИМ Y-253 на седьмые сутки культивирования

Fig. 2. Change in the color intensity of yeast colonies: a — *R. glutinis* BIM Y-158 on the second day of cultivation, b — *R. glutinis* BIM Y-158 on the third day of cultivation, c — *R. glutinis* BIM Y-158 on the fourth day of cultivation, d — *R. glutinis* BIM Y-158 on the seventh day of cultivation, e — *R. glutinis* BIM Y-253 on the second day of cultivation, f — *R. glutinis* BIM Y-253 on the third day of cultivation, g — *R. glutinis* BIM Y-253 on the fourth day of cultivation, h — *R. glutinis* BIM Y-253 on the seventh day of cultivation

4. **Свет.** Для микробиологического синтеза каротиноидов освещение является еще одним важным фактором. Известно, что сильное воздействие света на дрожжевые клетки является неблагоприятным фактором для их жизнедеятельности. Но, поскольку каротиноиды обладают антиоксидантными свойствами, они оказывают фотозащитное действие на клетки. Именно по этой причине стимуляция каротиногенеза освещением является одним из возможных путей управления

биосинтеза пигментов [7]. Исследования О.П. Червяковой показали, что свет влияет как на количественный, так и на качественный состав каротиноидов. Продуcentом пигментов выступали дрожжи *Rhodotorula rubra*. Преобладающим каротиноидом этих дрожжей является торулародин, также они синтезируют β , γ -каротин, торулен, фитоен, нейроспорин. В данной работе в качестве источника света использовали светодиодные лампы синего (470 нм), зеленого (525 нм), желтого (595 нм) и белого холодного цветов. В результате обнаружено, что общее количество каротиноидов увеличилось при использовании белого холодного, синего и зеленого освещения. Желтое освещение не оказало стимулирующего воздействия на каротиногенез у дрожжей. При этом, качественный состав синтезируемых каротиноидов отличался: синее освещение привело к гиперпродукции торулародина, а зеленое — к гиперпродукции β -каротина. Кроме того, торулен удалось получить только при воздействии зеленого освещения [24].

Из литературных данных известно, что постоянное и периодическое воздействие света на культуру дрожжей *Xanthophyllomyces dendrorhous* оказывало большое влияние на продукцию сильнейшего из антиоксидантов каротиноида астаксантина [29, 30]. Выявлено, что постоянное освещение (7000 лк) оказывало угнетающее действие на каротиногенез, а периодическое, наоборот, увеличивало продукцию астаксантина при тех же параметрах освещенности. Это позволяет при промышленном синтезе снизить энергозатраты примерно в 35 раз, сохранив при этом высокий выход продукции антиоксиданта [29]. В литературе приводятся и противоположные данные. Так, более низкие параметры освещенности (600 лк) стимулировали продукцию каротиноидов дрожжей *Xanthophyllomyces dendrorhous* в условиях постоянного воздействия света на 80 % больше, чем при периодическом освещении. Кроме того, показано, что в условиях отсутствия воздействия света при культивировании дрожжей, синтез каротиноидов значительно ниже, по сравнению с режимом постоянного или периодического освещения [32].

5. Температура. Синтез каротиноидов у дрожжей и выход биомассы также зависят от температуры. Показано, что температурный режим регулирует концентрацию ферментов, участвующих в каротиногенезе и, как следствие, влияет на продукцию пигментов у дрожжей. Оптимальная температура, при которой наблюдается максимальная продукция пигмента, в большинстве случаев составляет $\sim 30^\circ\text{C}$. При исследовании влияния температуры на продукцию каротиноидов и выход биомассы дрожжей у *Rhodotorula mucilaginosa* было установлено, что повышение температуры культивирования с 10°C до 30°C привело к резкому возрастанию обоих параметров [28]. Отмечено, что для максимального синтеза каротиноидов при культивировании дрожжей *Rhodotorula rubra* оптимальной является температура $28\text{--}30^\circ\text{C}$ [37], для дрожжей *Rhodotorula glutinis* — $29\text{--}32^\circ\text{C}$ [3, 7, 11]. Также показано, что температура влияет на качественный состав каротиноидов. Культивирование дрожжей *Rhodotorula glutinis* при более низких температурах ($20\text{--}25^\circ\text{C}$) повышало продукцию β -каротина, а при более высоких температурных режимах ($30\text{--}32^\circ\text{C}$) — торулародина и торулена [39, 40].

6. pH. Значение pH оказывает влияние как на продукцию каротиноидов, так и на биомассу дрожжей. Причем дрожжи лучше растут при более кислом pH среды культивирования (в большинстве случаев оптимум pH равен 5). Из литературных данных известно, что максимальная продукция каротиноидов и биомассы у дрожжей *Rhodotorula mucilaginosa* достигалась при значении pH 5, а более высокие значения pH среды приводили к резкому снижению как концентрации пигментов, так и уровня накопления биомассы дрожжей [28]. Для синтеза всего спектра каротиноидов дрожжей *Rhodotorula rubra* оптимальное значение pH также составляло ~ 5 . Однако при культивировании этих дрожжей в питательной среде при pH $\sim 6\text{--}7$ доля пигмента торулародина достигала более 90 % от общей массы каротиноидов [37]. Для *Rhodotorula graminis* оптимальное значение pH среды для синтеза β -каротина составляло 5,5 [48]. Для каротиноидсинтезирующих дрожжей *Xanthophyllomyces dendrorhous* выявлено, что максимальный рост дрожжей наблюдался при pH равном 5,8, а максимальный синтез пигментов — при pH 5,0 [4].

7. Аэрация. Процесс синтеза каротиноидов у дрожжей происходит в присутствии кислорода (каротиногенез — аэробный процесс), а скорость воздушного потока влияет на утилизацию субстрата дрожжевыми клетками и, соответственно, на скорость накопления биомассы и синтез каротиноидов [7, 9]. Показано, что режим аэрации оказывает влияние на количественный и качественный состав синтезируемых пигментов, а эффект аэрации носит индивидуальный характер и зависит от видовой принадлежности дрожжей. Так, П. Даволи с соавторами показали, что при культивировании *Rhodotorula glutinis* в условиях повышенной аэрации количество каротиноидов значительно увеличилось, при этом соотношение пигментов не изменилось (торулин > β -каротин > γ -каротин > торулародин). Культивирование *Sporobolomyces roseus* при тех же условиях, привело к большему синтезу β -каротина, чем торулена и торулародина [27]. В исследованиях Е.Д. Симова производилось совместное культивирование дрожжей *Rhodotorula rubra* и бактерий *Lactobacillus casei*. Культивирование осуществлялось в лактозной среде, в которой данные дрожжи не способны к росту. Поэтому

при совместном культивировании дрожжей и бактерий, последние расщепляли лактозу до источников углерода (глюкоза, галактоза), которые легко усваиваются дрожжами, в результате чего дрожжи были способны к росту и синтезу каротиноидов. Установлено, что совместное культивирование культур дрожжей и лактобактерий в условиях интенсивной аэрации привело к гиперпродукции β -каротина, в сравнении с другими пигментами. Выявлено также, что чем выше скорость воздушного потока, тем больше регистрируется доля β -каротина в общей массе каротиноидов, при этом конечный выход каротиноидов значительно снижается [9].

8. Ионы и соли металлов. Для дрожжей *Rhodotorula glutinis* показано стимулирующее действие на синтез каротиноидов ионов и солей металлов: бария, железа, магния, кальция, цинка, кобальта [7, 40, 48], а для *Rhodotorula graminis* выявлено, что действие ионов металлов Al^{3+} и Zn^{2+} привело к увеличению продукции β - и γ -каротина. Напротив, ионы металлов Mn^{2+} и Zn^{2+} оказывали ингибирующее влияние на синтез каротиноидов торулена и торулародина. Ионы и соли металлов в процессе каротиногенеза активируют специфические ферменты, участвующие в биосинтезе пигментов, что объясняет сложные эффекты воздействия этих факторов на продукцию каротиноидов [7].

9. Химические агенты. Химические факторы вызывают окислительный стресс, что сопровождается повышенным синтезом каротиноидов в дрожжевой клетке. При этом каротиноиды выполняют роль антиоксидантов и защищают клетку дрожжей от разрушающего воздействия химических агентов. На основе литературных данных установлено, что добавление в питательную среду оптимальной концентрации этанола (10 г/л) или уксусной кислоты (5 г/л) при культивировании дрожжей *Xanthophyllomyces dendrorhous* привело к увеличению продукции каротиноида астаксантина, а также биомассы дрожжей [30]. Другим агентом выступала перекись водорода, которая в оптимальной концентрации (4–6 г/л) вызывала гиперпродукцию каротиноидов у дрожжей рода *Rhodotorula* [5, 24]. Кроме того, к агентам, вызывающим окислительный стресс и сверхсинтез пигментов, относится хлорид натрия. При культивировании дрожжей вида *Rhodotorula glutinis* добавление 3 % NaCl в питательную среду (в данном исследовании использовалась сырая сыворотка) приводило к повышенной продукции каротиноидов, а при культивировании *Rhodotorula mucilagenosa* стимулирующий эффект оказывало добавление 6 % NaCl в ростовую среду [8].

Модификации культур дрожжей для получения штаммов с повышенным уровнем продукции каротиноидов. Перспективным направлением в создании штаммов дрожжей с повышенным синтезом каротиноидов является использование культур, которые изначально не были способны к синтезу пигментов. По литературным данным, для этих целей используют дрожжи видов *Saccharomyces cerevisiae* и *Candida utilis*. Эти дрожжи находят широкое применение в пищевой промышленности и, по данным Всемирной организации здравоохранения (ВОЗ), являются безопасными организмами (уровень биобезопасности BSL 1-2). Проведена успешная модификация дрожжей путем введения каротогенных генов из *Erwinia uredovora*, *Agrobacterium aurantiacum* или *Xanthophyllomyces dendrorhous*. В результате получены новые штаммы дрожжей, способные к синтезу β -каротина, ликопина или астаксантина. Также был получен рекомбинантный штамм-продуцент β -каротина и ликопина *Pichia pastoris*. Кроме дрожжей, сконструированы бактерии *Escherichia coli*, способные к синтезу каротиноидов [7].

Распространенным приемом получения новых линий дрожжей с гиперпродукцией пигментов является использование УФ-излучения. Из данных литературных источников известно, что обработка культуры дрожжей *Rhodotorula glutinis* УФ-излучением с длиной волны 250–280 нм привело к получению варианта, способного продуцировать в 120 раз больше β -каротина в сравнении с исходным штаммом. При этом β -каротин составлял 82 % от общего количества всех продуцируемых культурой каротиноидов, в то время как у исходного штамма дрожжей синтез этого пигмента достигал только 14 % [39].

Еще одним высокоэффективным способом получения штаммов дрожжей-продуцентов каротиноидов является использование химических соединений. Химические вещества могут оказывать влияние на биосинтез пигментов посредством различных механизмов: изменение регуляции экспрессии генов, блокирование основных биохимических путей биосинтеза пигментов или доступности кофакторов и др. При этом может изменяться не только количество продуцируемых каротиноидов, но и их качественный состав.

Наиболее распространенными и широко используемыми для стимуляции биосинтеза каротиноидов химическими веществами являются дифениламин (ДФА) и никотин. Дифениламин ингибирует фитоинсинтазу (КФ 2.5.1.32), в результате чего в клетках происходит накопление фитоена и других насыщенных каротиноидов, а никотин — ликопенциклазу (КФ 5.5.1.19), при этом в клетках преимущественно накапливается ликопин. При использовании данных химических соединений с целью получения продуцирующих каротиноиды штаммов необходимо подобрать оптимальную концентрацию исследуемых веществ, при которой не будет ингибироваться рост дрожжевых культур.

По литературным данным, выявлено влияние ДФА на рост и продукцию каротиноидов у дрожжей видов *Rhodotorula rubra* и *Rhodotorula glutinis* (табл. 3) [52].

Таблица 3. Эффект влияния различных концентраций ДФА на синтез каротиноидов у дрожжей
Table 3. The effect of various concentrations of DPA on the synthesis of carotenoids in yeast

Концентрация ДФА, ммоль/л	Вид дрожжей и наблюдаемый эффект	
	<i>Rhodotorula rubra</i>	<i>Rhodotorula glutinis</i>
5–10	Сверхпродукция фитоена, в 7 раз превышающая контроль. Повышение концентрации ДФА сопровождалось снижением продукции нейроспорина, торулена и торулародина	Сверхпродукция фитоена, в 2 раза превышающая контроль
10	Увеличение содержания β -каротина на 34 % по отношению к общему содержанию каротиноидов; при этом повышение концентрации ДФА сопровождалось снижением продукции нейроспорина, торулена и торулародина	-
>10	Снижение скорости роста культуры	Снижение скорости роста культуры
>15	Синтез каротиноидов наблюдался	Полное прекращение продукции каротиноидов
25	Полное прекращение продукции каротиноидов	-
50	Отсутствие роста культуры	Отсутствие роста культуры

Добавление в ростовую среду никотина при культивировании дрожжей *Rhodotorula rubra* и *Rhodotorula glutinis* в тех же концентрациях, что и ДФА, не оказывало сильного влияния на рост дрожжей. В тоже время, добавление никотина в количестве 20 ммоль/л сопровождалось увеличением продукции ликопина до 77 % от общего содержания каротиноидов у исследованных культур дрожжей [52].

Для дрожжей *Rhodotorula rubra* получены линии клеток с сверхпродукцией каротиноидов путем мутагенеза с использованием N-метил-N-нитро-N-нитрозогуанидина. В результате экспериментов получены NTG мутанты с различной окраской колоний: белые, кремовые, ярко-розовые, коричневые, розово-оранжевые, красно-оранжевые и желто-оранжевые. При этом у исходного штамма дрожжей образование такой разнообразной окраски колоний не наблюдалось. Результатом двухэтапного мутагенеза (во время первого этапа мутагенеза наблюдалась нестабильность цвета колоний у полученных мутантов) стал NTG мутантный штамм, который синтезировал более широкий спектр каротиноидов (в 3,4 раза) и в 8,3 раза больше β -каротина из общего пула пигментов, чем исходный штамм дрожжей. Полученный NTG мутант являлся лактозонегативным и синтезировал большее количество каротиноидов на средах, содержащих в качестве источников углерода глюкозу, галактозу и сахарозу. В ходе дальнейших исследований выполнено совместное культивирование NTG мутанта дрожжей *Rhodotorula rubra* и молочнокислых бактерий *Lactobacillus bulgaricus* и *Streptococcus thermophilus* (выделены из закваски йогурта) в лактозном субстрате. Лактобактерии расщепляли лактозу до глюкозы и галактозы, которые легко усваиваются дрожжами. В результате данного эксперимента установлено, что при совместном культивировании мутанта дрожжей *Rhodotorula rubra* и молочнокислых бактерий, выделенных из йогурта, увеличилась как продукция каротиноидов (в 1,9 раз), так и биомасса дрожжей (в 1,2 раза) по сравнению с раздельным культивированием дрожжей в глюкозном субстрате и лактобактерий [31].

Штаммы дрожжей с высоким уровнем продукции каротиноидов. Анализ патентной и научно-технической литературы показал, что лидером по получению патентов на технологии производства каротиноидов с помощью высокопродуктивных штаммов дрожжей является Российская Федерация. Для повышения уровня продукции каротиноидов у производственных штаммов используют различные приемы: выращивание дрожжей в условиях отсутствия света и присутствия синглетного кислорода; воздействие мутагенов и миллиметровых волн низкой интенсивности; ферментация дрожжей в медьсодержащей культуре.

Закключение. Таким образом, красные дрожжи родов *Rhodotorula*, *Xanthophyllomyces*, *Rhodospiridium*, *Cryptococcus*, *Sporobolomyces*, *Sporidiobolus*, *Stigmatomyces* являются перспективными продуцентами природных каротиноидов. Наиболее изученными и применяемыми в биотехнологиях получения каротиноидсодержащих пищевых и кормовых добавок, а также лечебно-профилактических препаратов являются дрожжи рода *Rhodotorula* и *Xanthophyllomyces*. В настоящее время повышение синтеза таких каротиноидов как β -каротин, торулен, торулародин и астаксантин у штаммов дрожжей-продуцентов имеет большое значение для различных областей промышленности. Поэтому усовершенствование

изученных культур с использованием современной методологии селекции и генной инженерии, а также разработка новых методов получения штаммов дрожжей-гиперпродуцентов каротиноидов является важной научно-производственной задачей для Республики Беларусь.

Список использованных источников

1. Дрожжи в современной биотехнологии / Т.Е. Банницына [и др.] // Вестник МАХ. — 2016. — № 1 — С. 24–29.
2. Ефименко, Д.Ю. Направленный синтез каротиноидов у дрожжей *Rhodospiridium diobovatum* / Д.Ю. Ефименко. — Студенческая наука XXI века. — 2013. — С. 1–3.
3. Biosynthetic production of carotenoids using yeast strains of genus *Rhodotorula* on the cheap beer wort substrate / N.V. Besarab [et al.] // Journal of microbiology, biotechnology and food sciences. — 2018. — № 7(4) — P. 383–386.
4. Cardoso, L.A. de C. Microbial production of carotenoids — A review / L.A. de C. Cardoso, K.Y.F. Kanno, S.G. Karp. — African journal of biotechnology. — 2017. — Vol. 16(4) — P. 139–146.
5. Червякова, О.П. Получение микробной биомассы, обогащенной каротиноидами / О.П. Червякова. — Успехи в химии и химической технологии. — 2010. — Т. 15, № 11(116) — С. 51–53.
6. Получение биомассы каротинсинтезирующих дрожжей рода *Rhodotorula* при культивировании на сельскохозяйственных отходах / О.П. Червякова [и др.] // Бутлеровские сообщения. — 2017. — Т. 50, № 5. — С. 95–98.
7. Biotechnological production of carotenoids by yeast: an overview / L.C. Mata-Gomez [et al.] // Microbial cell factories. — 2014. — P. 1–11.
8. Optimization of carotenoids production by yeast strains of *Rhodotorula* using salted cheese whey / H.M. Kanzy [et al.] // International journal of current microbiology and applied sciences. — 2015. — Vol. 4, № 1 — P. 456–469.
9. Simova, E.D. Effect of aeration on the production of carotenoid pigments by *Rhodotorula rubra*-*Lactobacillus casei* Subsp. *casei* co-cultures in whey ultrafiltrate / E.D. Simova, G.I. Frengova, D.M. Beshkova. — Bulgarian academy of sciences. — 2003. — P. 225–229.
10. Voaides, C. The effect of nitrogen source on carotenoids production by *Rhodotorula sp.* / C. Voaides, R. Dima. — Romanian biotechnological letters. — 2012. — Vol. 17, № 5 — P. 7570–7576.
11. Influence of growth factors on carotenoid pigmentation of *Rhodotorula glutinis* DFR-PDY from natural source / B.V. Latha [et al.] // Indian journal of biotechnology. — 2005. — Vol. 4 — P. 353–357.
12. Buzzini, P. Batch and fed-batch carotenoid production by *Rhodotorula glutinis*-*Debaryomyces castellii* co-cultures in corn syrup / P. Buzzini. — Journal of applied microbiology. — 2001. — № 90 — P. 843–847.
13. Ferrao, M. Studies on effect of media components on growth and β -carotene production by *Rhodotorula graminis* RC04 / M. Ferrao, S. Garg. — Journal of cell and tissue research. — 2011. — Vol. 11(1) — P. 2551–2556.
14. Скрипнюк, А.А. Современные методы получения β -галактозидаз / А.А. Скрипнюк, С.А. Рябцева. — Технические науки «Наука. Инновации. Технологии». — 2014. — № 3 — С. 197–204.
15. Саубенова, М.Г. Производство биоэтанола как альтернативного источника энергии / М.Г. Саубенова, Т.В. Кузнецова. — Приволжский научный вестник. — 2015. — № 7(47) — С. 23–26.
16. Внеклеточные полисахариды дрожжей *Cryptococcus albidus* (SAITO) SKINNER / О.Г. Мамеева [и др.] // Мікробіологія і біотехнологія. — 2008. — № 1 — С. 29–35.
17. Сапунова, Л.И. Внеклеточные полисахариды дрожжевого гриба *Cryptococcus flavesceus* — продуцента β -галактозидазы / Л.И. Сапунова, А.А. Костеневич. — Успехи медицинской микологии. — 2014. — Т. 12 — С. 264–266.
18. BitisAgro — Кормовые добавки — адсорбенты микотоксинов [Электронный ресурс]. — Режим доступа: <http://bitis.by/katalog-produktsii/kormovye-dobavki/adsorbenty-mikotoksinov/adsorbent-mikotoksinov-mikrobond>. — Дата доступа: 2013.
19. Alltech mycotoxin management — Микосорб А+ [Электронный ресурс]. — Режим доступа: <http://www.knownmycotoxins.com/ru/node/851>. — Дата доступа: 2016.
20. Полисахариды микроорганизмов в практике [Электронный ресурс]. — Режим доступа: <http://mikrobiki.ru/mikrobiologiya/mikrobiologiya/polisaharidy-mikroorganizmov-v-praktike.html>. — Дата доступа: 2015.
21. Зимозан — инструкция по применению, состав, показания, аналоги [Электронный ресурс]. — Режим доступа: https://www.medmoon.ru/medicina/zimozan_instrukcija_po_primeneniju_pokazaniya.html. — Дата доступа: 2007.
22. Влияние добавок на основе кормовых дрожжей на некоторые биохимические показатели крови у лактирующих коров / Ю.А. Воеводина [и др.] // Молочнохозяйственный вестник. — 2018. — № 1(29) — С. 25–35.

23. Чачина, С.Б. Деструкция углеводов нефти с использованием микробиологических препаратов «Байкал-ЭМ», «Тамир», «Восток» / С.Б. Чачина, С.В. Болтунова, Н.В. Черкашина. — Омский научный вестник. — 2015. — № 1(138) — С. 221–225.
24. Червякова, О.П. Исследование каротиногенеза дрожжами *Rhodotorula rubra* / О.П. Червякова, С.С. Караулова. — Успехи в химии и химической технологии. — 2009. — Т. 13, № 10(103) — С. 117–120.
25. Чернов, И.Ю. Дрожжи в природе / И.Ю. Чернов. — Москва: Товарищество научных изданий КМК, 2013. — 336 с.
26. Дараселия, Г.Я. Влияние витаминов на рост и каротиногенез *Rhodococcus sp.* / Г.Я. Дараселия. — Естественные науки. — 2004. — № 4 — С. 54–56.
27. Даволи, П. Каротиноиды и жирные кислоты в красных дрожжах *Sporobolomyces roseus* и *Rhodotorula glutinis* / П. Даволи, В.А. Мирау, Р.В.С. Вебер. — Прикладная биохимия и микробиология. — 2004. — Т. 40, № 4 — С. 460–465.
28. Naghavi, F.S. Effect of temperature, pH and salinity on carotenoid production in *Rhodotorula mucilaginosa* / F.S. Naghavi, P. Hanachi, A. Saboor. — Research in biotechnology. — 2014. — № 5(4) — P. 1–4.
29. Культивирование дрожжей *Phaffia rhodozyma* при постоянном и периодическом освещении / З.В. Захаров [и др.] // Известия МГТУ «МАМИ». — 2012. — Т. 4, № 2(14) — С. 86–89.
30. High-level production of astaxanthin by fed-batch culture of mutana strain *Phaffia rhodozyma* AJ-6-1 / Su-Jin Kim [et al.] // J. Microbiol. Biotechnol. — 2003. — № 13(2) — P. 175–181.
31. Frengova, G.I. Improvement of carotenoid-synthesizing yeast *Rhodotorula rubra* by chemical mutagenesis / G.I. Frengova, E.D. Simova, D.M. Beshkova. — Bulgarian academy of sciences. — 2004 — P. 99–103.
32. Stachowiak, B. Effect of light on carotenoid yield in fed cultures of *Phaffia rhodozyma* CBS 5625 / B. Stachowiak, Z. Czarnecki. — Polish journal of food and nutrition sciences. — 2007. — Vol. 57, № 3(A) — P. 129–131.
33. Maldonado, I.R. Selection and characterization of carotenoid-producing yeasts from Campinas region, Brazil / I.R. Maldonado, A.R.P. Scamparini, D.B. Rodriguez-Amaya. — Brazilian journal of microbiology. — 2007. — № 38 — P. 65–70.
34. Somashekar, D. Inverse relationship between carotenoid and lipid formation in *Rhodotorula fragilis* according to the C/N ratio of the growth medium / D. Somashekar, R. Joseph. — Word journal of microbiology & biotechnology. — 2000. — № 16 — P. 491–493.
35. Кирица, Е. Влияние растительных экстрактов на процесс биосинтеза каротиноидов дрожжами / Е. Кирица. — Вестник АПК Верхневолжья. — 2017. — № 3(39) — С. 54–58.
36. Каротиноиды: строение, биологические функции и перспективы применения / В.И. Дейнека [и др.] // Научные ведомости. — 2008. — № 6(46). — С. 19–25.
37. The influence of operating conditions on the growth of the yeast *Rhodotorula rubra* ICCF 209 and on torularhodin formation / A. Mihalcea [et al.] // Rev. Chim. (Bucharest). — 2011. — № 6 — P. 659–665.
38. Hien, Ly T.M. Effects of nutritional and environmental conditions on carotenoid biosynthesis by *Rhodotorula sp.* / Ly T.M. Hien, Dong T.A. Dao. — Journal of science Ho Chi Minh city open university. — 2018. — № 8(2) — P. 18–23.
39. *Rhodotorula glutinis* — potential source of lipids, carotenoids, and enzymes for use in industries / A.M. Kot [et al.] // Appl. Microbiol. Biotechnol. — 2016. — Vol. 100 — P. 6103–6117.
40. El-Banna, Amr A. Some factors affecting the production of carotenoids by *Rhodotorula glutinis* var. *Glutinis* / Amr A. El-Banna, Amal M. Abd El-Razek, A.R. El-Mahdy. — Food and nutrition sciences. — 2012. — № 3 — P. 64–71.
41. Завьялова, А.Н. Физиологическая роль природных каротиноидов / А.Н. Завьялова, А.В. Суржик. — Вопросы современной педиатрии. — 2008. — Т. 7, № 6 — С. 145–149.
42. Global Carotenoids Market To Reach \$1.4 Billion In 2018 [Электронный ресурс]. — Режим доступа: [https://www.bccresearch.com/pressroom/fod/global-carotenoids-market-reach-\\$1.4-billion-2018](https://www.bccresearch.com/pressroom/fod/global-carotenoids-market-reach-$1.4-billion-2018). — Дата доступа: 23.09.2018.
43. Carotenoids Market by Product (Astaxanthin, Capsanthin, Lutein, Beta-carotene, Lycopene, and Others), Source (Natural and Synthetic), and Application (Animal Feed, Human Food, Dietary Supplement, and Others) - Global Opportunity Analysis and Industry Forecast, 2018-2025 [Электронный ресурс]. — Режим доступа: <https://www.alliedmarketresearch.com/carotenoids-market>. — Дата доступа: 22.08.2018.
44. Global Carotenoid Market - Growth, Trends, and Forecast (2019 - 2024) [Электронный ресурс]. — Режим доступа: <https://www.mordorintelligence.com/industry-reports/carotenoids-market-industry>. — Дата доступа: 29.03.2018.
45. Похилько, С.Ю. Каротиноиды в биотехнологии / С.Ю. Похилько [Электронный ресурс]. — Режим доступа: <https://www.sworld.com.ua/index.php/ru/biology-411/ecology-and-biotechnology-411/11499-411-0075>. — Дата доступа: 13.12.2011.

46. Егоров, Н.С. Промышленная микробиология / Н.С. Егоров. — Москва: «Высшая школа», 1989. — 687 с.
47. Дараселия, Г.Я. Стимуляция роста и картиногенеза *Rhodococcus specium* штамм 44 / Г.Я. Дараселия, М.И. Фомина. — Вестник АГТУ. — 2008. — № 3(44) — С. 173–177.
48. Ferrao, M. Shake flask optimization of β -carotene production in *Rhodotorula graminis* RC04 / M. Ferrao, S. Garg. — African journal of biotechnology. — 2012. — Vol. 11(52) — P. 11431–11437.
49. Fruit and vegetable intakes, dietary antioxidant nutrients, and total mortality in Spain adults: findings from the Spanish cohort of the European prospective investigation into cancer and nutrition (EPIC-Spain)¹⁻³ / A. Agudo [et al.] // The American journal of clinical nutrition. — 2007. — Vol. 85 — P. 1634–1642.
50. Шпичка, А.И. Современное состояние и перспективы биотехнологий на основе эремотеция — продуцента рибофлавина и эфирного масла / А.И. Шпичка, Е.Ф. Семенова. — Пензенский журнал: Успехи современного естествознания. — 2013. — № 11 — С. 87–97.
51. Libkind, D. *Rhodotorula mucilaginosa*, a carotenoid producing yeast strain from a Patagonian high-altitude lake / D. Libkind, S. Brizzio, M.V. Broock. — Folia microbial. — 2004. — № 49(1) — P. 19–25.
52. Squina, F.M. Influence of nicotine and diphenylamine on the carotenoid composition of *Rhodotorula* strains / F.M. Squina, A.Z. Mercadante. — Journal of food biochemistry. — 2005. — № 29 — P. 638–652.
53. Поиск патентной информации [Электронный ресурс]. — Режим доступа: <https://ru.espacenet.com>.

Информация об авторах

Савчик Анастасия Вячеславовна — младший научный сотрудник лаборатории «Коллекция микроорганизмов», Институт микробиологии НАН Беларуси (ул. им. академика В.Ф. Купревича, 2, 220141, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: nastya.savchik@mail.ru

Новик Галина Ивановна — кандидат биологических наук, заведующий лабораторией «Коллекция микроорганизмов», Институт микробиологии НАН Беларуси (ул. им. академика В.Ф. Купревича, 2, 220141, г. Минск, Республика Беларусь). E-mail: galina_novik@mbio.bas-net.by

Information about authors

Savchik Anastasia V. — The Institute of Microbiology of National Academy of Sciences of Belarus (2, Kuprevich str., 220141, Minsk, Belarus). E-mail: nastya.savchik@mail.ru

Novik Galina I. — Ph.D. (Biological). The Institute of Microbiology of National Academy of Sciences of Belarus (2, Kuprevich str., 220141, Minsk, Belarus). E-mail: galina_novik@mbio.bas-net.by