

Белінська А.П., к.техн.н., доцент, Варанкіна О.О., к.техн.н., доцент,
Близнюк О.М., д.техн.н., професор, Масалітіна Н.Ю., к.техн.н., доцент,
Кричковська Л.В., д.біол.н., професор

КОНТРОЛЬ ТА КЕРУВАННЯ ПРОЦЕСУ ЕКСТРАКЦІЇ В ПРОМИСЛОВІЙ БІОТЕХНОЛОГІЇ БЕТА-КАРОТИНУ З *BLAKESLEA TRISPORA*

Національний технічний університет "Харківський політехнічний інститут", Харків

Ключові слова: міцеліальний гриб *Blakeslea trispora*, промислова біотехнологія, β-каротин, екстрагенти, технологічні властивості, контроль та керування.

Вступ

Одним з актуальних завдань промислової біотехнології є керування процесом виробництва біологічно активних речовин, зокрема, β-каротину. Продуцентами означеної сполуки можуть служити мікроорганізми, що здатні синтезувати широкий комплекс біологічно активних речовин. Промислові штами гетероталічного міцеліального гриба *Blakeslea trispora*, зокрема КР 74⁺ и КР 86⁻, а також мікроводорість *Dunaliella salina* є надпродуцентами β-каротину. Харчова добавка Е 160aііі (β-каротин мікробіологічний) як можливі побічні продукти містить певні клітинні метаболіти в мінімальній кількості (близько 1 %), що є безпечними для здоров'я [1]. Основною стадією біотехнології виробництва β-каротинвмісної біомаси є ферментація *Blakeslea trispora*, під час якої проходить біосинтез цільової речовини у ферментерах періодичним способом на патоково-екстрактних середовищах [2].

Варто відзначити, що на сьогоднішній день олійні розчини мікробіологічного β-каротину мають певний технологічний недолік – високий вміст первинних продуктів окиснення (пероксида, гідропероксида), вторинних продуктів окиснення (альдегіди, кетони), а також вільних жирних кислот [3, 4]. З цієї причини актуальним є питання виробництва олійних концентратів мікробіологічного β-каротину високого ступеню очищення. Рішенню даного питання присвячені численні дослідження [4–6].

Дослідження існуючих рішень проблеми

Сучасні технології виділення β-каротину з біомаси продуцентів полягають в екстрагуванні токсичними органічними розчинниками, зокрема гексаном, що ускладнює використання його в харчових цілях [1, 3, 5].

В роботах [7–10] проведено дослідження з керуванням основних стадій технології отримання β-каротину, що розчинений в клітинних ліпідах біомаси *Blakeslea trispora*. Зокрема, в роботі [7] досліджено технологічні особливості екстракції розчинної і кристалічної форм β-каротину з біомаси соняшникової олією. Недоліком даної технології можна вказати використання досить високої температури (100 °С) процесу екстракції цільової сполуки, яка є досить окси- і термолабільною.

В роботах [11–13] наведено результати досліджень з керуванням основних стадій біотехнології культивування каротиноїдів біомасою мікроводорості *Dunaliella salina*. Зокрема, в роботі [11] обґрунтовано ефективні технологічні параметри технології отримання олійного екстракту β-каротину з біомаси мікроводорості *Dunaliella salina*. Обґрунтовано використання соняшникової олії як екстрагенту, температурний режим

(близько 30 °С) і тривалість екстракції (4 доби). Слабкою стороною даної технології можна вказати велику тривалість процесу екстракції, що є недоцільною з економічної точки зору.

Альтернативний варіант рішення питання контролю та керування складу екстрактів β-каротину з біомаси *Blakeslea trispora* викладено в роботі [4]. Обґрунтовано технологічні режими рафінації олійних розчинів β-каротину мікробіологічного, які забезпечують поліпшення його фізико-хімічних показників. Застосування запропонованих технологічних режимів рафінації «β-каротину мікробіологічного в олії» дозволяє збільшити його термін зберігання більш ніж в 2,5 рази.

Таким чином, результати аналізу існуючих наукових розробок свідчать про існування високопродуктивних мікроорганізмів, що дозволяють виробляти мікробіологічний β-каротин, але єдиної думки щодо можливості контролю та керування технологічних показників екстрактів даної біологічно активної харчової добавки не існує. Вибір найбільш прийняттого технічного рішення для кожного окремого об'єкта дослідження може базуватися на результатах, що отримані в досліджуваних модельних системах. Однак, перспективним з точки зору технологічних і економічних аспектів є використання різних видів харчових неполярних екстрагентів для β-каротину, що дозволить комплексно використовувати їх технологічні особливості.

Мета та основні задачі дослідження

Метою даної роботи є контроль процесу екстракції олійних екстрактів β-каротину, який отримують за біотехнологією культивування міцеліального гриба *Blakeslea trispora* для керування його технологічних властивостей. Для досягнення поставленої мети необхідно вирішити наступні задачі:

– дослідити технологічні параметри екстракції β-каротину з біомаси *Blakeslea trispora* рослинними оліями різного жирнокислотного складу і з різним вмістом природних антиоксидантів;

– визначити раціональні параметри екстракції β-каротину з біомаси *Blakeslea trispora* в залежності від складу екстрагентів для керування його технологічними властивостями.

Матеріали та методи досліджень

В експериментах використано зразки біомаси гетероталічного гриба *Blakeslea trispora* IMBF-100019, що депонований в музеї промислових культур Інституту мікробіології і вірусології НАН України. Вирощування грибної біомаси проведено постадійно. Ферментаційна середа включає наступні складові: 4...6 % кукурудзяного екстракту (відповідає концентрації азоту 0,18...0,24 %), 5...7 % патоки (відповідає концентрації вуглеводів 0,15...0,18 %), 0,05...0,06 % дигідрофосфату калію, 2,0...2,2 % кукурудзяної олії. Як джерело вуглеводів використовувались гідролізати житніх або вівсяних висівок (відповідає концентрації цукрів 0,6...0,8 %), як джерело азоту використовували глютен (відповідає концентрації азоту 0,2...0,3 %).

Отриману біомасу *Blakeslea trispora* піддавали сепаруванню та висушуванню за 40 °С. Висушена біомаса *Blakeslea trispora* слугувала сировиною для екстракції β-каротину. Модельну екстракцію β-каротину з біомаси проводили з попередньою гомогенізацією твердої і рідкої фаз (частота обертів леза ножа 6000 хв⁻¹) з постійним перемішуванням (частота обертів мішалки 60 хв⁻¹). Умови проведення процесу: масове співвідношення твердої і рідкої фаз 1 : 3, температура екстракції 40...80 °С, тривалість процесу 30...60 хв.

Визначення β -каротину в біомасі *Blakeslea trispora* та олійних екстрактах проведено згідно з ДСТУ 4305 з використанням спектрофотометра СФ-46 при довжині хвилі 450 нм, в кварцових кюветах з товщиною шару 1 см відносно розчинника – етанолу.

Визначення кислотного числа в біомасі *Blakeslea trispora* та олійних екстрактах проведено згідно з ДСТУ 4350.

Визначення пероксидного числа в біомасі *Blakeslea trispora* та олійних екстрактах проведено згідно з ДСТУ ISO 3960.

Результати дослідження

Досліджено можливість екстракції β -каротину з висушеної біомаси *Blakeslea trispora* харчовими неполярними екстрагентами – рафінованими дезодорованими оліями. Екстракція харчовими оліями дозволяє одночасно з цільовим продуктом вилучати й інші жиророзчинні біологічно активні сполуки, зокрема, поліненасичені жирні кислоти, токофероли, супутні каротиноїди. Для дослідження технологічних параметрів екстракції β -каротину з біомаси *Blakeslea trispora* процес екстракції проведено рослинними оліями різного жирнокислотного складу і з різним вмістом природних антиоксидантів: рафінованими дезодорованими соняшниковою, високоолеїною соняшниковою, кукурudzяною і кунжутною.

Експерименти по визначенню залежності вмісту β -каротину в олійних екстрактах означених рафінованих дезодорованих олій від температури та тривалості екстракції проведено відповідно до плану експерименту. Факторами, що впливають на функцію відгуку – вміст β -каротину в олійних екстрактах ($C_{\beta k}(T, \tau)$, мг/г), прийнято температуру (T , °C) і тривалість процесу (τ , хв.). Результати досліджень вмісту β -каротину в олійних екстрактах означених рафінованих дезодорованих олій від температури та тривалості екстракції представлено на рис. 1–4.

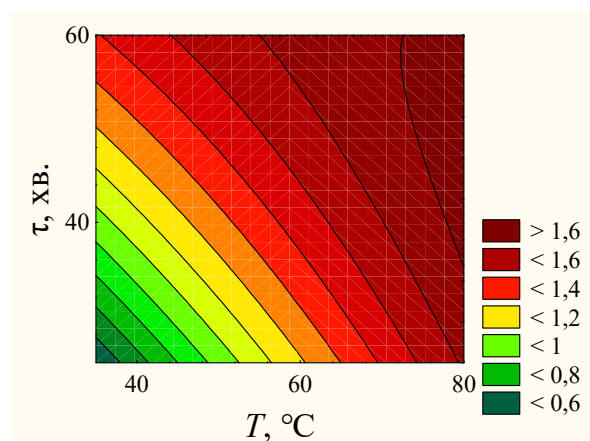


Рисунок 1 – Залежність вмісту β -каротину в олійних екстрактах рафінованої дезодорованої соняшникової олії від температури та тривалості екстракції

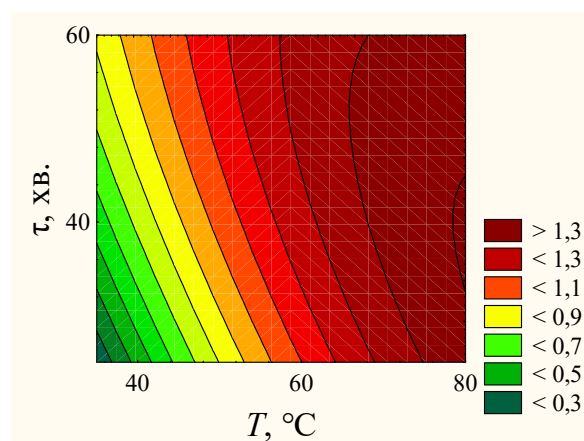


Рисунок 2 – Залежність вмісту β -каротину в олійних екстрактах рафінованої дезодорованої соняшникової високоолеїнової олії від температури та тривалості екстракції

На основі експериментальних досліджень (рис. 1–4) створено статистичні моделі (1–4) залежностей вмісту β -каротину в олійних екстрактах означених рафінованих дезодорованих олій від температури та тривалості екстракції при величині достовірності апроксимації $R^2 > 0,921$. Варто відзначити, що отримані статистичні моделі адекватні для температури процесу 40...80 °C, тривалості процесу 30...60 хв.

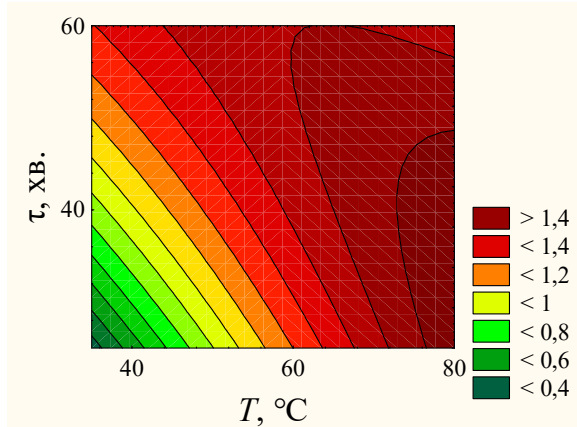


Рисунок 3 – Залежність вмісту β -каротину в олійних екстрактах рафінованої дезодорованої кукурудзяної олії від температури та тривалості екстракції

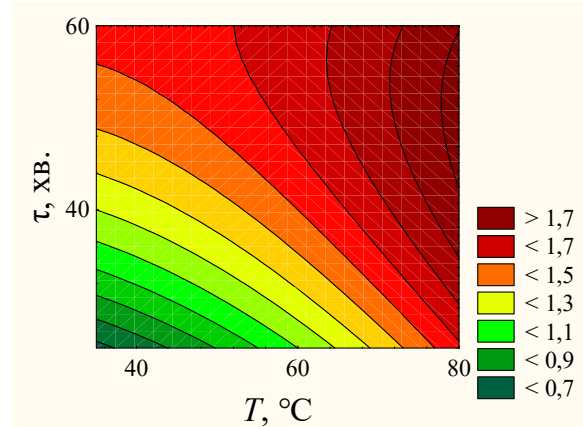


Рисунок 4 – Залежність вмісту β -каротину в олійних екстрактах рафінованої дезодорованої кунжутної олії від температури та тривалості екстракції

$$C_{\beta k}(T, \tau)_s = -2,0875 + 0,0511 \cdot T + 0,0613 \cdot \tau - 0,0001 \cdot T^2 - 0,0005 \cdot T \cdot \tau - 0,0002 \cdot \tau^2; \quad (1)$$

$$C_{\beta k}(T, \tau)_{hos} = -2,925 + 0,0812 \cdot T + 0,0506 \cdot \tau - 0,0004 \cdot T^2 - 0,0004 \cdot T \cdot \tau - 0,0002 \cdot \tau^2; \quad (2)$$

$$C_{\beta k}(T, \tau)_{corn} = -3,1292 + 0,0751 \cdot T + 0,0794 \cdot \tau - 0,0002 \cdot T^2 - 0,0007 \cdot T \cdot \tau - 0,0003 \cdot \tau^2; \quad (3)$$

$$C_{\beta k}(T, \tau)_{ses} = -1,345 + 0,0117 \cdot T + 0,0823 \cdot \tau + 0,0002 \cdot T^2 - 0,0003 \cdot T \cdot \tau - 0,0005 \cdot \tau^2; \quad (4)$$

де $C_{\beta k}(T, \tau)_s$ – вміст β -каротину в олійних екстрактах соняшникової олії, мг/г; $C_{\beta k}(T, \tau)_{hos}$ – вміст β -каротину в олійних екстрактах соняшникової високоолеїнової олії, мг/г; $C_{\beta k}(T, \tau)_{corn}$ – вміст β -каротину в олійних екстрактах кукурудзяної олії, мг/г; $C_{\beta k}(T, \tau)$ – вміст β -каротину в олійних екстрактах кунжутної олії, мг/г; T – температура процесу, $^{\circ}\text{C}$; τ – тривалість процесу, хв.

За допомогою даних залежностей можна прогнозувати вміст β -каротину в олійних екстрактах біомаси означених рафінованих дезодорованих олій в залежності від температури та тривалості процесу екстракції. З отриманих експериментальних даних видно, що застосування вказаних рафінованих дезодорованих олій практично не впливає на вміст β -каротину в олійних екстрактах біомаси.

Експерименти по визначенню залежності величини кислотного числа олійних розчинів β -каротину в рафінованих дезодорованих оліях від температури та тривалості екстракції проведено відповідно до плану експерименту. Показник кислотне число характеризує вміст вільних жирних кислот в продукті. Факторами, що впливають на функцію відгуку – кислотне число олійного екстракту β -каротину ($AN_{\beta k}(T, \tau)$, мг KOH/г), прийнято температуру (T , $^{\circ}\text{C}$) і тривалість процесу (τ , хв.). Результати досліджень величини кислотного числа олійних екстрактів β -каротину в означених рафінованих дезодорованих оліях від температури та тривалості екстракції представлено на рис. 5–8.

На основі експериментальних досліджень (рис. 5–8) створено статистичні моделі (5–8) залежностей величини кислотного числа олійних екстрактів β -каротину в означених рафінованих дезодорованих оліях від температури та тривалості екстракції при величині достовірності апроксимації $R^2 > 0,943$. Отримані статистичні моделі адекватні для температури процесу 40...80 $^{\circ}\text{C}$, тривалості процесу 30...60 хв.

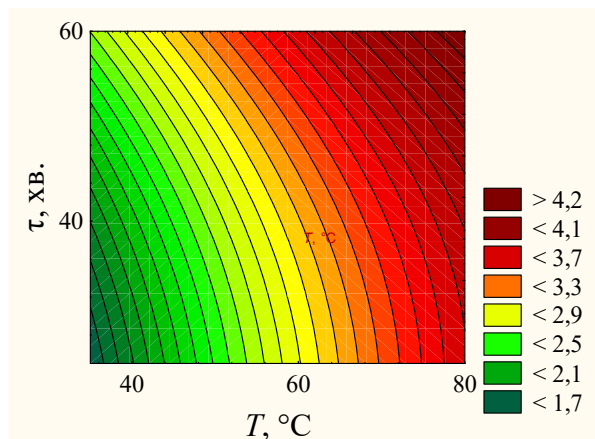


Рисунок 5 – Залежність величини кислотного числа олійних екстрактів β -каротину в рафінованій дезодорованій соняшниковій олії від температури та тривалості екстракції

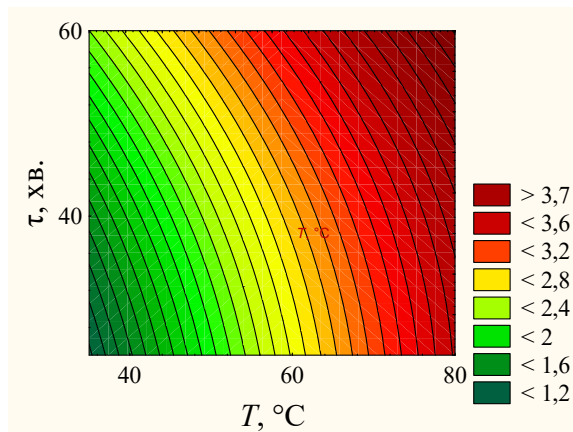


Рисунок 6 – Залежність величини кислотного числа олійних екстрактів β -каротину в рафінованій дезодорованій соняшниковій високоолеїновій олії від температури та тривалості екстракції

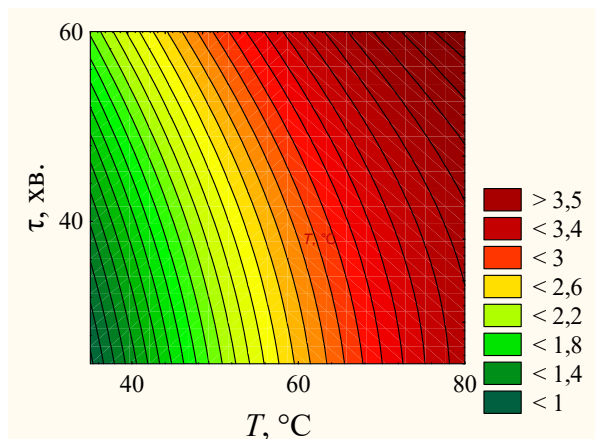


Рисунок 7 – Залежність величини кислотного числа олійних екстрактів β -каротину в рафінованій дезодорованій кукурудзяній олії від температури та тривалості екстракції

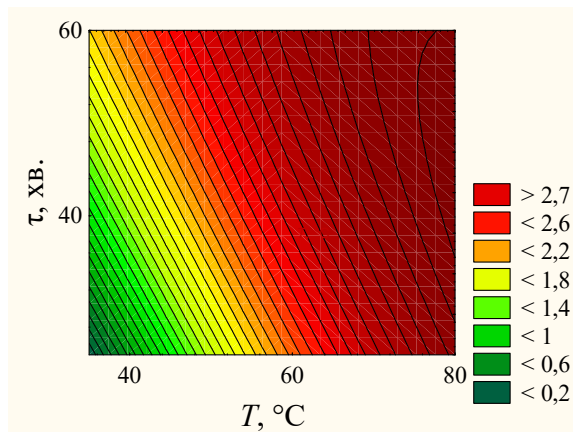


Рисунок 8 – Залежність величини кислотного числа олійних екстрактів β -каротину в рафінованій дезодорованій кунжутній олії від температури та тривалості екстракції

$$AN_{\beta k}(T, \tau)_s = -0,975 + 0,0812 \cdot T - 0,0006 \cdot \tau - 0,0002 \cdot T^2 - 0,0002 \cdot T \cdot \tau + 0,0004 \cdot \tau^2; \quad (5)$$

$$AN_{\beta k}(T, \tau)_{hos} = -1,7222 + 0,0817 \cdot T + 0,0122 \cdot \tau - 0,0002 \cdot T^2 - 0,0003 \cdot T \cdot \tau + 0,0004 \cdot \tau^2; \quad (6)$$

$$AN_{\beta k}(T, \tau)_{corn} = -2,9556 + 0,1258 \cdot T + 0,01 \cdot \tau - 0,0005 \cdot T^2 - 0,0003 \cdot T \cdot \tau + 0,0004 \cdot \tau^2; \quad (7)$$

$$AN_{\beta k}(T, \tau)_{ses} = -7,525 + 0,1871 \cdot T + 0,1294 \cdot \tau - 0,0007 \cdot T^2 - 0,0011 \cdot T \cdot \tau - 0,0004 \cdot \tau^2; \quad (8)$$

де $AN_{\beta k}(T, \tau)_s$ – кислотне число олійних екстрактів β -каротину в соняшниковій олії, мг KOH/g ; $AN_{\beta k}(T, \tau)_{hos}$ – кислотне число олійних екстрактів β -каротину в соняшниковій високоолеїнової олії, мг KOH/g ; $AN_{\beta k}(T, \tau)_{corn}$ – кислотне число олійних екстрактів β -каротину в кукурудзяній олії, мг KOH/g ; $AN_{\beta k}(T, \tau)$ – кислотне число олійних екстрактів β -каротину в кунжутній олії, мг KOH/g ; T – температура процесу, $^{\circ}C$; τ – тривалість процесу, хв.

Дані залежності дозволяють прогнозувати величину кислотного числа олійних екстрактів β -каротину в обраних рафінованих дезодорованих оліях в залежності від температури та тривалості процесу екстракції. З отриманих експериментальних даних видно, що найбільший вміст вільних жирних кислот спостерігається під час екстрагування з біомаси біологічно активної сполуки соняшниковою олією, мінімального вмісту вільних жирних кислот вдається досягти в екстрактах кукурудзяної і кунжутної олій.

Експерименти по визначенню залежності величини пероксидного числа олійних розчинів β -каротину в рафінованих дезодорованих оліях від температури та тривалості екстракції проведено відповідно до плану експерименту. Величина пероксидного числа характеризує вміст первинних продуктів окиснення ліпідів (пероксидів, гідрпероксидів) в продукті. Факторами, що впливають на функцію відгуку – пероксидне число олійного екстракту β -каротину ($PN_{\beta k}(T, \tau)$, $\frac{1}{2}$ ммоль/кг), прийнято температуру (T , °C) і тривалість процесу (τ , хв.). Результати досліджень величини пероксидного числа олійних екстрактів β -каротину означених рафінованих дезодорованих олій від температури та тривалості екстракції представлено на рис. 9–12.

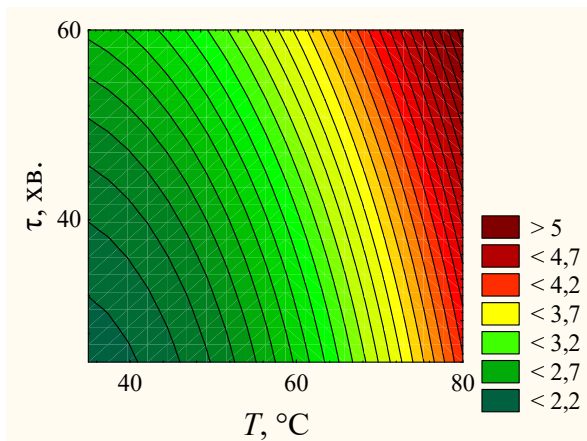


Рисунок 9 – Залежність величини пероксидного числа олійних екстрактів β -каротину в рафінованій дезодорованій соняшниковій олії від температури та тривалості екстракції

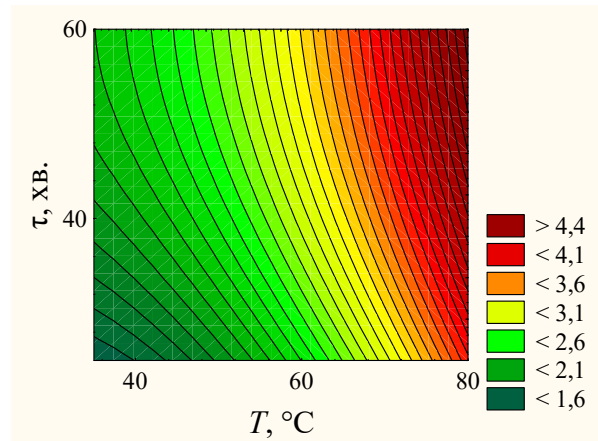


Рисунок 10 – Залежність величини пероксидного числа олійних екстрактів β -каротину в рафінованій дезодорованій соняшниковій високоолеїновій олії від температури та тривалості екстракції

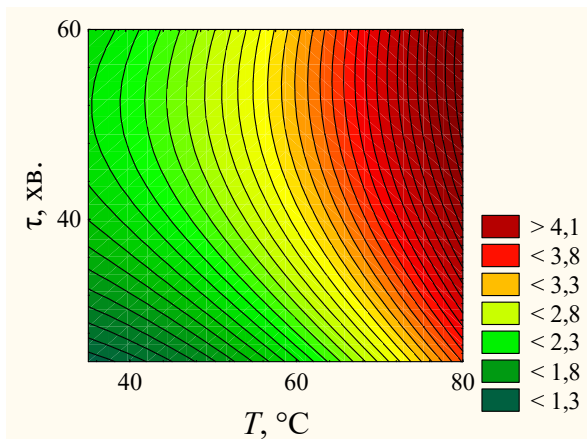


Рисунок 11 – Залежність величини пероксидного числа олійних екстрактів β -каротину в рафінованій дезодорованій кукурудзяній олії від температури та тривалості екстракції

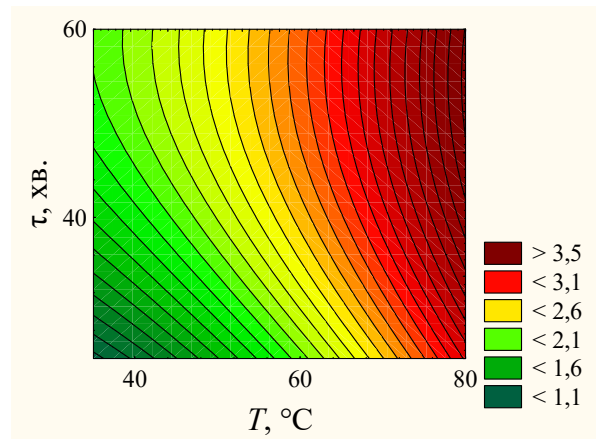


Рисунок 12 – Залежність величини пероксидного числа олійних екстрактів β -каротину в рафінованій дезодорованій кунжутній олії від температури та тривалості екстракції

На основі експериментальних досліджень (рис. 9–12) створено статистичні моделі (9–12) залежностей величини пероксидного числа олійних екстрактів β-каротину в означених рафінованих дезодорованих оліях від температури та тривалості екстракції при величині достовірності апроксимації $R^2 > 0,916$. Отримані статистичні моделі адекватні для температури процесу 40...80 °С, тривалості процесу 30...60 хв.

$$PN_{\beta k}(T, \tau)_s = 3,3639 - 0,0662 \cdot T - 0,0172 \cdot T + 0,0009 \cdot T^2 + 0,0002 \cdot T \cdot \tau + 0,0003 \cdot \tau^2; \quad (9)$$

$$PN_{\beta k}(T, \tau)_{\text{hos}} = 0,9528 - 0,0496 \cdot T + 0,055 \cdot T + 0,0008 \cdot T^2 + 0,0003 \cdot T \cdot \tau - 0,0005 \cdot \tau^2; \quad (10)$$

$$PN_{\beta k}(T, \tau)_{\text{corn}} = -0,925 - 0,0396 \cdot T + 0,1294 \cdot T + 0,0008 \cdot T^2 + 0,0003 \cdot T \cdot \tau - 0,0013 \cdot \tau^2; \quad (11)$$

$$PN_{\beta k}(T, \tau)_{\text{ses}} = -1,4944 + 0,0042 \cdot T + 0,1022 \cdot T + 0,0004 \cdot T^2 - 0,0002 \cdot T \cdot \tau - 0,0008 \cdot \tau^2, \quad (12)$$

де $PN_{\beta k}(T, \tau)_s$ – пероксидне число олійних екстрактів β-каротину в соняшниковій олії, ½ О ммоль/кг; $PN_{\beta k}(T, \tau)_{\text{hos}}$ – пероксидне число олійних екстрактів β-каротину в соняшниковій високоолеїнової олії, ½ О ммоль/кг; $PN_{\beta k}(T, \tau)_{\text{corn}}$ – пероксидне число олійних екстрактів β-каротину в кукурудзяній олії, ½ О ммоль/кг; $PN_{\beta k}(T, \tau)$ – пероксидне число олійних екстрактів β-каротину в кунжутній олії, ½ О ммоль/кг; T – температура процесу, °С; τ – тривалість процесу, хв.

Дані залежності дозволяють прогнозувати величину пероксидного числа олійних екстрактів β-каротину обраних рафінованих дезодорованих олій в залежності від температури та тривалості процесу екстракції. З отриманих експериментальних даних видно, що найбільший вміст первинних продуктів окиснення ліпідів (пероксидів та гідропероксидів) спостерігається під час екстрагування з біомаси біологічно активної сполуки соняшnikовою олією, мінімального вмісту вільних жирних кислот вдається досягти в екстрактах кунжутної олії.

Базуючись на проведених дослідженнях, визначено раціональні параметри екстракції β-каротину з біомаси *Blakeslea trispora* в залежності від складу екстрагентів (рафінованих дезодорованих соняшnikової, високоолеїнової соняшnikової, кукурудзяної і кунжутної олій) для керування технологічними властивостями його розчинів – а саме вмісту β-каротину, величини кислотного і пероксидного чисел.

Висновки

За результатами аналітичного огляду наукової літератури та проведених досліджень зроблено висновки щодо актуальності дослідження екстракції цільових продуктів в біотехнології культивування *Blakeslea trispora*:

– досліджено технологічні параметри екстракції β-каротину з біомаси *Blakeslea trispora* рослинними оліями різного жирнокислотного складу і з різним вмістом природних антиоксидантів: рафінованими дезодорованими соняшnikовою, високоолеїновою соняшnikовою, кукурудзяною і кунжутною. Створено статистичні моделі залежностей вмісту β-каротину в олійних екстрактах означених олій від температури та тривалості екстракції, а також відповідно величини аналітичних чисел, що характеризують вміст вільних жирних кислот та первинних продуктів окиснення ліпідів;

– базуючись на проведених дослідженнях, визначено раціональні параметри екстракції β-каротину з біомаси *Blakeslea trispora* в різних екстрагентах (рафінованих дезодорованих соняшnikової, високоолеїнової соняшnikової, кукурудзяної і кунжутної

олій) для керування технологічними властивостями його розчинів. Доведено, що застосування вказаних рафінованих дезодорованих олій як екстрагентів практично не впливає на вміст β -каротину в олійних екстрактах біомаси. Найбільший вміст вільних жирних кислот спостерігається під час екстрагування β -каротину з біомаси соняшnikовою олією, мінімального вмісту вільних жирних кислот вдається досягти в екстрактах кукурудзяної і кунжутної олій. Найбільший вміст первинних продуктів окиснення ліпідів (пероксидів та гідропероксидів) спостерігається під час екстрагування β -каротину з біомаси соняшnikовою олією, мінімального вмісту вільних жирних кислот вдається досягти в екстрактах кунжутної олії.

Література

1. Borowitzka M.A. 11-Carotenoid Production Using Microorganisms // *Single Cell Oils (Second Edition)*. Microbial and Algal Oils. 2010. P. 225–240.
2. Анацький А.С., Кунщикова Є.О. Вплив ступеня аерації культуральної рідини на біосинтетичну активність грибно́ї культури *blakeslea trispora* // Вісник Дніпропетровського університету. Біологія. Екологія. 2009. Вип. 17. Т. 2. С. 15–19.
3. Roukas T. Modified rotary biofilm reactor: A new tool for enhanced carotene productivity by *Blakeslea trispora* // *Journal of Cleaner Production*. 2018. Vol. 174. P. 1114–1121.
4. Белінська А.П., Кричковська Л.В., Зекунова Т.І. Розробка технологічних режимів рафінації олійних розчинів β -каротину // Наукові праці Одеської національної академії харчових технологій. 2010. Вип. 38 (2). С. 157–160.
5. He Z., Wang Sh., Yang Yu., Hu J., Wang C., Li H., Ma B. β -Carotene production promoted by ethylene in *Blakeslea trispora* and the mechanism involved in metabolic responses // *Process Biochemistry*. 2017. Vol. 57. P. 57–63.
6. Гагарина Л.В., Евтеева Н.М., Смурова Л.Л., Бобнева С.М. Влияние масляной основы на стабильность растворенного микробиологического каротина // *Химико-фармацевтический журнал*. 1996. Т. 30, № 6. С.51–56.
7. Кудинова С.П. Разработка технологии получения и фармако-токсикологические исследования бета-каротина: Автореф. дис... докт. биол. наук. Краснодар. 2003. 45 с.
8. Кричковская Л.В. Создание биологически-активных продуктов на основе стабилизированного каротина биотехнологического происхождения: Автореф. дис... докт. биол. наук, Киев. 2003. 36 с.
9. Choudhari Sh., Singhal R. Media optimization for the production of β -carotene by *Blakeslea trispora*: A statistical approach // *Bioresource Technology*. 2008. Vol. 99, Is. 4, P. 722–730.
10. Jing K., He Sh., Chen T., Lu Y. Enhancing beta-carotene biosynthesis and gene transcriptional regulation in *Blakeslea trispora* with sodium acetate // *Biochemical Engineering Journal*. 2016. Vol. 114. P. 10–17.
11. Чернова Л.А., Горбань В.Г., Антоненко С.П., Гудвилович И.Н., Боровков А.Б. Получение масляного экстракта каротиноидов из микроводоросли *Dunaliella salina* // *Бюлетень ДНБС*. 2013. Вип. 108. С. 63–69.
12. Nwoba E. G., RohaniT., Raeisossadati M., Vadiveloo A., Bahri P. A. Monochromatic light filters to enhance biomass and carotenoid productivities of *Dunaliella salina* in raceway ponds // *Bioresource Technology*. 2021. Vol. 340. 125689.
13. Pourkarimi S., Hallajisani A., Alizadehdakhel A., Nouralishahi A., Golzary A. Factors affecting production of beta-carotene from *Dunaliella salina* microalgae // *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2020. Vol. 29. 101771.

Bibliography (transliterated)

1. Borowitzka M.A. 11-Carotenoid Production Using Microorganisms // Single Cell Oils (Second Edition). Microbial and Algal Oils. 2010. P. 225–240.
2. Anatskyi A.S., Kunshchikova Ye.O. Vplyv stupenia aeratsii kulturalnoi ridyny na biosyntetychnu aktyvnist hrybnoi kultury blakeslea trispora // Visnyk Dnipropetrovskoho universytetu. Biologiya. Ekologiya. 2009. Vyp. 17. T. 2. P. 15–19.
3. Roukas T. Modified rotary biofilm reactor: A new tool for enhanced carotene productivity by *Blakeslea trispora* // Journal of Cleaner Production. 2018. Vol. 174. P. 1114–1121.
4. Belinska A.P., Krychkovska L.V., Zekunova T.I. Rozrobka tekhnolohichnykh rezhymiv rafinatsii oliinykh rozchyniv β -karotynu // Naukovi pratsi Odeskoi natsionalnoi akademii kharchovykh tekhnolohii. 2010. Vyp. 38 (2). P. 157–160.
5. He Z., Wang Sh., Yang Yu., Hu J., Wang C., Li H., Ma B. β -Carotene production promoted by ethylene in *Blakeslea trispora* and the mechanism involved in metabolic responses // Process Biochemistry. 2017. Vol. 57. P. 57–63.
6. Gagarina L.V., Evteeva N.M., Smurova L.L., Bobneva S.M. Vliyanie maslyanoj osnovy na stabil'nost' rastvorenogo mikrobiologicheskogo karotina // Himiko-farmaceuticheskij zhurnal. 1996. T. 30, № 6. P. 51–56.
7. Kudinova S.P. Razrabotka tekhnologii polucheniya i farmako-toksikologicheskie issledovaniya beta-karotina: Avtoref. dis... dokt. biol. nauk. Krasnodar. 2003. 45 p.
8. Krichkovskaya L.V. Sozdanie biologicheskii-aktivnykh produktov na osnove stabilizirovannogo karotina biotekhnologicheskogo proiskhozhdeniya: Avtoref. dis... dokt. biol. nauk, Kiev. 2003. 36 s.
9. Choudhari Sh., Singhal R. Media optimization for the production of β -carotene by *Blakeslea trispora*: A statistical approach // Bioresource Technology. 2008. Vol. 99, Is. 4, P. 722–730.
10. Jing K., He Sh., Chen T., Lu Y. Enhancing beta-carotene biosynthesis and gene transcriptional regulation in *Blakeslea trispora* with sodium acetate // Biochemical Engineering Journal. 2016. Vol. 114. P. 10–17.
11. Chernova L.A., Gorban' V.G., Antonenko S.P., Gudvilovich I.N., Borovkov A.B. Poluchenie maslyanogo ekstrakta karotinoidov iz mikrovodorosli *Dunaliella salina* // Byuleten' DNBS. 2013. Vip. 108. P. 63–69.
12. Nwoba E.G., Rohani T., Raeisossadati M., Vadiveloo A., Bahri P.A. Monochromatic light filters to enhance biomass and carotenoid productivities of *Dunaliella salina* in raceway ponds // Bioresource Technology. 2021. Vol. 340. 125689.
13. Pourkarimi S., Hallajisani A., Alizadehdakhel A., Nouralishahi A., Golzary A. Factors affecting production of beta-carotene from *Dunaliella salina* microalgae // Biocatalysis and Agricultural Biotechnology. 2020. Vol. 29. 101771.

УДК 663.16

Белінська А.П., к.техн.н., доцент, Варанкіна О.О., к.техн.н., доцент,
Близнюк О.М., д.техн.н, професор, Масалітіна Н.Ю., к.техн.н, доцент,
Кричковська Л.В., д.біол.н., професор

КОНТРОЛЬ ТА КЕРУВАННЯ ПРОЦЕСУ ЕКСТРАКЦІЇ В ПРОМИСЛОВІЙ БІОТЕХНОЛОГІЇ БЕТА-КАРОТИНУ З *BLAKESLEA TRISPORA*

Досліджено технологічні параметри, а саме температуру і тривалість процесу екстракції β -каротину з біомаси міцеліального гриба *Blakeslea trispora* рослинними олі-

ями різного жирнокислотного складу і з різним вмістом природних антиоксидантів: рафінованими дезодорованими соняшниковою, високоолеїною соняшниковою, кукурудзяною і кунжутною. Створено статистичні моделі залежностей вмісту β -каротину в олійних екстрактах означених рафінованих дезодорованих олій від температури та тривалості екстракції, а також величини аналітичних чисел, що характеризують вміст вільних жирних кислот (кислотне число) та первинних продуктів окиснення ліпідів (пероксидне число) від температури та тривалості екстракції.

Визначено раціональні параметри екстракції β -каротину з біомаси *Blakeslea trispora* обраними екстрагентами (рафінованими дезодорованими соняшниковою, високоолеїною соняшниковою, кукурудзяною і кунжутною оліями) для керування технологічними властивостями його розчинів. Доведено, що застосування вказаних рафінованих дезодорованих олій як екстрагентів практично не впливає на вміст цільового продукту в олійних екстрактах біомаси, але впливає на аналітичні числа екстрактів, що характеризують вміст вільних жирних кислот, пероксидів та гідропероксидів. Найбільший вміст вільних жирних кислот спостерігається під час екстрагування β -каротину з біомаси соняшниковою олією, мінімального вмісту вільних жирних кислот вдається досягти в екстрактах кукурудзяної і кунжутної олій. Найбільший вміст первинних продуктів окиснення ліпідів (пероксидів та гідропероксидів) спостерігається під час екстрагування β -каротину з біомаси соняшниковою олією, мінімального вмісту вільних жирних кислот вдається досягти в екстрактах кунжутної олії.

За допомогою отриманих апроксимаційних залежностей можна прогнозувати вміст β -каротину, а також величини кислотного і пероксидного чисел в олійних екстрактах біомаси в означених рафінованих дезодорованих оліях в залежності від температури та тривалості процесу екстракції.

Ключові слова: міцеліальний гриб *Blakeslea trispora*, промислова біотехнологія, β -каротин, екстрагенти, технологічні властивості, контроль та керування.

Белинская А.П., к.техн.н., доцент, Варанкина А.А., к.техн.н., доцент,
Близнюк О.Н., д.техн.н., профессор, Масалитина Н.Ю., к.техн.н., доцент,
Кричковская Л.В., д.биол.н., профессор

КОНТРОЛЬ И УПРАВЛЕНИЕ ПРОЦЕССОМ ЭКСТРАКЦИИ В ПРОМЫШЛЕННОЙ БИОТЕХНОЛОГИИ БЕТА-КАРОТИНА ИЗ *BLAKESLEA TRISPORA*

Исследованы технологические параметры, а именно температура и продолжительность процесса экстракции β -каротина из биомассы мицелиального гриба *Blakeslea trispora* растительными маслами различного жирнокислотного состава и с различным содержанием природных антиоксидантов: рафинированным дезодорированным подсолнечным, високоолеиновым подсолнечным, кукурузным и кунжутным. Созданы статистические модели зависимостей содержания β -каротина в масляных экстрактах указанных рафинированных дезодорированных масел от температуры и продолжительности экстракции, а также величины аналитических чисел, характеризующих содержание свободных жирных кислот (кислотное число) и первичных продуктов окисления липидов (пероксидное число) от температуры и продолжительности экстракции.

Определены рациональные параметры экстракции β -каротина из биомассы *Blakeslea trispora* выбранными экстрагентами (рафинированным дезодорированным подсолнечным, високоолеиновым подсолнечным, кукурузным и кунжутным маслами) для управления технологическими свойствами экстрактов. Доказано, что применение указанных рафинированных дезодорированных масел как экстрагентов практически не

влияет на содержание целевого продукта в масляных экстрактах биомассы, но влияет на аналитические числа экстрактов, характеризующие содержание свободных жирных кислот, пероксидов и гидропероксидов. Наибольшее содержание свободных жирных кислот наблюдается при экстракции β -каротина из биомассы подсолнечным маслом, минимального содержания свободных жирных кислот удается достичь в экстрактах кукурузного и кунжутного масел. Наивысшее содержание первичных продуктов окисления липидов (пероксидов и гидропероксидов) наблюдается во время извлечения β -каротина из биомассы подсолнечным маслом, минимального содержания свободных жирных кислот удается достичь в экстрактах кунжутного масла.

С помощью полученных аппроксимационных зависимостей можно прогнозировать содержание β -каротина, а также величины кислотного и перекисного чисел различных экстрактов биомассы в указанных рафинированных дезодорированных маслах в зависимости от температуры и продолжительности процесса экстракции.

Ключевые слова: мицелиальный гриб *Blakeslea trispora*, промышленная биотехнология, β -каротин, экстрагент, технологические свойства, контроль и управление.

Belinska A.P., Varankina O.O., Bliznjuk O.M., Masalitina N.Yu., Krichkovska L.V.

CONTROL AND OPERATIONS MANAGEMENT OF EXTRACTION PROCESS IN INDUSTRIAL BIOTECHNOLOGY OF BETA-CAROTINE FROM *BLAKESLEA TRISPORA*

The technological parameters, namely temperature and duration of β -carotene extraction process from the biomass of filamentous fungus *Blakeslea trispora* with vegetable oils of various fatty acid compositions and with various contents of natural antioxidants (refined deodorized sunflower, visio-oleic sunflower, corn and sesame) have been investigated. Statistical models of dependences of β -carotene, as well as analytical numbers, characterizing the content of free fatty acids (acid number) and primary products of lipid oxidation (peroxide number) content, in oil extracts of the specified refined deodorized oils, from temperature and extraction duration have been built.

Rational parameters of β -carotene extraction from *Blakeslea trispora* biomass with selected extractants (refined deodorized sunflower, high oleic sunflower, corn and sesame oils) have been determined for the extracts technological properties control. It has been proven that the use of these refined deodorized oils as extractants practically does not affect the content of the target product in oil extracts of biomass, but it does affect the analytical numbers of extracts characterizing the content of free fatty acids, peroxides and hydroperoxides. The highest content of free fatty acids in β -carotene containing biomass extraction with sunflower oil has been observed. The minimum content of free fatty acids in extracts with corn and sesame oils using has been achieved. The highest content of primary products of lipid oxidation (peroxides and hydroperoxides) during β -carotene containing biomass extraction by sunflower oil has been observed. The minimum content of free fatty acids in extracts with sesame oil using has been achieved.

It is possible to predict β -carotene content, as well as acid and peroxide numbers of oil extracts from biomass in specified refined deodorized oils, depending on temperature and extraction process duration using the obtained approximation dependences.

Keywords: filamentous fungus *Blakeslea trispora*, industrial biotechnology, β -carotene, extractant, technological properties, process control and operations management.