

О.О. Нечипуренко, М.А. Хархота, Л.В. Авдєєва

Інститут мікробіології і вірусології імені Д. К. Заболотного НАН України,
вул. Академіка Заболотного, 154, Київ ГСП, Д 03680, Україна,
тел.: +38 (093) 762 30 83, e-mail: ne4upura@ukr.net

ВПЛИВ ДЖЕРЕЛ КАРБОНУ, НІТРОГЕНУ ТА СОЛЕЙ МЕТАЛІВ НА ПРОДУКТИВНІСТЬ КАРОТИНСИНТЕЗУВАЛЬНИХ ШТАМІВ *BACILLUS SUBTILIS* 1.1 ТА *B. AMYLOLIQUEFACIENS* УКМ В-5113

Мета. Дослідити вплив джерел карбону, нітрогену, солей металів на продуктивність каротинсинтезувальних штамів *B. amyloliquefaciens* УКМ В-5113 та *B. subtilis* 1.1. **Методи.** Динаміку росту та пігментоутворення досліджених каротинсинтезувальних штамів визначали шляхом глибинного культивування у періодичних умовах з урахуванням біотехнологічних показників. Екстракцію пігментів проводили з використанням суміші хлороформу та метанолу (2:1). Якісний склад каротиноїдів оцінювали за їх спектрами поглинання. **Результати.** Загальна продуктивність каротиноїдів штамами *B. subtilis* 1.1 та *B. amyloliquefaciens* УКМ В-5113 була найбільшою на середовищах з арабінозою, мальтозою, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ та FeSO_4 і становила 168 та 384 мг/л, 310 та 570 мг/л, 296 та 640 мг/л, 309 та 605 мг/л, відповідно. **Висновки.** Оптимальними для накопичення біомаси та каротиногенезу обох досліджених штамів бактерій роду *Bacillus* серед джерел карбону, нітрогену та солей металів були арабіноза, мальтоза, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ та FeSO_4 . Загальна продуктивність каротиноїдів штамами *B. subtilis* 1.1 та *B. amyloliquefaciens* УКМ В-5113 за культивування на середовищах з арабінозою, мальтозою, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ та FeSO_4 була більшою ніж на контрольному середовищі у 2,1–3,9 та 1,6–2,7 рази, відповідно, при незмінному якісному складі пігментів.

Ключові слова: штами *B. amyloliquefaciens* УКМ В-5113, *B. subtilis* 1.1, пігментоутворення, каротиноїди, джерела карбону, нітрогену.

У народному господарстві широко використовуються каротиноїдні пігменти, які переважно отримують шляхом хімічного та мікробіологічного синтезу. Перевагою останнього є те, що мікроорганізми-продуценти здатні синтезувати широкий спектр каротиноїдів. До того ж варіюванням складу поживного середовища можна досягнути значних змін у рівні накопичення біомаси бактерій, кількісному та якісному вмісті каротиноїдних пігментів [7].

Підбір оптимального джерела карбону є одним з найважливіших чинників інтенсифікації пігментоутворення. Показано, що у результаті варіювання джерел карбону у поживному середовищі кількість синтезованого бактеріями β -каротину збільшувалась у 3 рази [9]. Нітроген також є необхідним компонентом для росту та пігментоутворення бактерій, оскільки він входить до складу



структурних елементів клітин, ферментів, нуклеїнових кислот та ін. [1]. Окрім цього, у літературі зустрічаються дані щодо здатності солей металів стимулювати синтез каротиноїдів у дріжджеподібних грибів, проте відомості щодо бактерій роду *Bacillus* відсутні [3, 8]. До того ж для промислового культивування бактерій широко використовують живильні середовища виготовлені на водопровідній воді, що може містити високі концентрації катіонів металів (Fe^{2+} , Fe^{3+} , Cu^{2+} , Al^{3+}) і, як наслідок, інгібувати ріст та продуктивність мікроорганізмів [4].

Раніше нами було показано, що штами *Bacillus amyloliquefaciens* УКМ В-5113 та *B. subtilis* 1.1 здатні синтезувати пігменти каротиноїдної природи, представлені комплексом з протеїнами та ліпідами [2]. Однак, вплив складових компонентів поживного середовища на їх ріст та пігментоутворення залишається недослідженим. З огляду на вищевикладене метою нашої роботи було дослідити вплив джерел карбону, нітрогену та солей металів на продуктивність каротинсинтезувальних штамів *B. subtilis* 1.1 та *B. amyloliquefaciens* УКМ В-5113.

Матеріали та методи

Об'єктом дослідження були каротинсинтезувальні штами *B. subtilis* 1.1 з музею відділу антибіотиків та *B. amyloliquefaciens* УКМ В-5113 – з Української колекції мікроорганізмів Інституту мікробіології і вірусології імені Д.К. Заболотного НАН України.

Досліджені штами бактерій вирощували в умовах глибинного культивування з використанням контрольного синтетичного середовища ($\text{pH} = 7,0$) наступного складу (г/л): $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7 \times 3\text{H}_2\text{O} - 1,29$, $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4 - 4,75$, $\text{KH}_2\text{PO}_4 - 9,60$, $\text{MgSO}_4 - 0,18$, глюкоза – 20,00. Культивування бактерій здійснювали на качалці зі швидкістю 200 об/хв за температури 37°C впродовж 18–24 годин.

Для дослідження впливу джерел карбону на рівень накопичення біомаси та пігментоутворення штамів *B. subtilis* 1.1 та *B. amyloliquefaciens* УКМ В-5113 використано, моноцукри (галактоза, фруктоза, рамноза, арабіноза, ксилоза), дисахариди (лактоза, цукроза, мальтоза), полісахариди (крохмаль, тилоза), спирти (манітол, дульцитол, гліцерин, еритрит, сорбітол) у кількості еквівалентній глюкозі у контрольному середовищі. Також було вивчено вплив джерел неорганічного нітрогену ($\text{C(N)} = 7 \text{ mM}$): KNO_3 , NaNO_3 , NH_4NO_3 , NH_4Cl та $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$; органічного нітрогену (0,2%): соєвий концентрат, дріжджовий екстракт, дріжджовий автолізат, казеїн, солодові паростки, пептон, соєве борошно; та солей металів (0,1 mM): MnSO_4 , FeSO_4 , CaCl_2 , ZnSO_4 , CuSO_4 , CdSO_4 , $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$, FeCl_3 [1, 3]. Контролем для всіх варіантів дослідів слугувало вихідне синтетичне середовище.

Екстракцію пігментів проводили шляхом гомогенізації сухої біомаси бацил у ступці з поступовим додаванням суміші хлороформу та метанолу у співвідношенні 2:1 [7, 8]. Кількість абсолютно сухої біомаси (АБ) бактерій (г/л), загальний вміст каротиноїдів у біомасі (мг/г, показник, який відображає закономірності синтезу каротиноїдів і не пов'язаний з накопиченням біомаси у культуральній рідині) та загальну продуктивність каротиноїдів (мг/л, відобра-



жає взаємозв'язок накопичення біомаси та пігментів бактерій у культуральній рідині) встановлювали на основі калібрувальних кривих, отриманих шляхом вимірювання оптичної густини культуральної рідин та екстрактів пігментів за довжини хвилі 540 та 440 нм, відповідно. Для попереднього аналізу якісного складу каротиноїдів у екстракті визначали спектри поглинання у видимій області світла на Specord 11.

Для оцінки достовірності експериментальних даних, використовували параметричні критерії нормального розподілу, обчислюючи середнє арифметичне ($X_{\text{сер.}}$), середню квадратичну похибку ($S_{x \text{ сер.}}$) за кількості 6 повторів дослідів та рівнях значимості 0,05.

Результати дослідження

Для синтезу ізопреноїдних ланцюгів каротиноїдів мікроорганізмам обов'язково необхідні джерела карбону, такі як, спирти, тріози, тетроза, пентози, гексози, дисахариди, полісахариди або інші карбонвмісні речовини. Підбір оптимального джерела карбону є одним з найважливіших чинників інтенсифікації пігментоутворення [1]. Нами показано, що серед усіх досліджених моноцукрів оптимальними для культивування *B. subtilis* 1.1 були фруктоза, арабіноза та ксилоза, додавання яких у середовище призводило до накопичення біомаси на 50–70% більше ніж на вихідному середовищі ($p > 0,05$) (рис. 1).

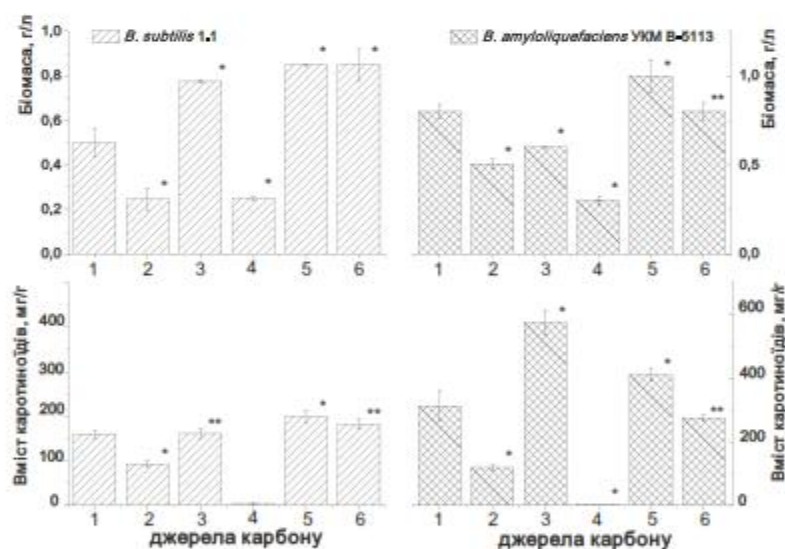


Рис. 1. Вплив моноцукрів на накопичення біомаси та пігментоутворення штамів *B. subtilis* 1.1 та *B. amyloliquefaciens* УКМ В-5113

Примітка: 1 – глюкоза (контроль), 2 – галактоза, 3 – фруктоза, 4 – рамноза, 5 – арабіноза, 6 – ксилоза; * – різниця достовірна ($p > 0,05$), ** – різниця недостовірна ($p > 0,05$)

Fig. 1. Monosaccharides influence upon biomass accumulation and pigment production of strains *B. subtilis* 1.1 and *B. amyloliquefaciens* UCM B-5113

Note: 1 – glucose (control), 2 – galactose, 3 – fructose, 4 – rhamnose, 5 – arabinose, 6 – xylose; * – significant difference ($p > 0.05$), ** – nonsignificant difference ($p > 0.05$)



Для накопичення біомаси штаму *B. amyloliquefaciens* УКМ В-5113 оптимальним джерелом карбону виявилась арабіноза, що забезпечувала на 20% більший приріст за глюкозу ($p > 0,05$). Ксилоза не впливала, а фруктоза, рамноза та галактоза призводили до зменшення накопичення біомаси цього штаму (рис. 1). Отже, пентози краще метаболізуються вищезгаданими культурами бацил, ніж гексози, що вказує на провідну роль пентозофосфатного шляху у засвоєнні карбону і узгоджується з даними, викладеними у роботах Gorke B. [4].

Відмічено, що арабіноза, яка стимулювала ріст обох досліджених штамів також стимулювала синтез пігментів. Так загальний вміст каротиноїдів для штамів *B. subtilis* 1.1 та *B. amyloliquefaciens* УКМ В-5113 за культивування на середовищі з арабінозою становив 200 ± 10 та 410 ± 20 мг/г АСБ, що на 20 та 24% більше за відповідні значення у контролі ($p > 0,05$). Загальний вміст каротиноїдів у штаму *B. amyloliquefaciens* УКМ В-5113 за культивування на середовищі з фруктозою збільшувався на 57% порівняно з контролем ($p > 0,05$).

За культивування штамів *B. subtilis* 1.1 та *B. amyloliquefaciens* УКМ В-5113 на середовищі з арабінозою загальна продуктивність каротиноїдів була найбільшою і перевищувала у 2,1 та 1,6 рази відповідні показники, отримані на контрольному середовищі. Встановлений факт є відмінним від даних щодо синтезу каротиноїдів дріжджеподібними грибами роду *Rhodotorula*, які найбільшу кількість пігменту утворювали на середовищі з глюкозою та фруктозою [3]. З огляду на отримані дані, висуваємо припущення, що синтез каротиноїдів вищезгаданими штамми бацил відбувається через 2С-метил-D-еритрол-4-фосфатний шлях [6].

Іншою групою цукрів, вплив яких досліджено на ріст та пігментоутворення штамів *B. subtilis* 1.1 та *B. amyloliquefaciens* УКМ В-5113, були дисахариди та полісахариди (рис. 2).

Показано, що ріст обох культур був вищий порівняно з контролем за використання цукрози, мальтози чи крохмалю як джерел карбону ($p > 0,05$). Найбільший стимулюючий ефект на ріст штамів відмічали за їх культивування на середовищі з мальтозою. Штами *B. subtilis* 1.1 та *B. amyloliquefaciens* УКМ В-5113 накопичували у 2,7 та 3,8 рази більше біомаси, ніж за культивування на середовищі з глюкозою (рис. 2).

Мальтоза підвищувала загальний вміст каротиноїдів штаму *B. subtilis* 1.1 у 1,4 рази та не впливала на пігментоутворення штаму *B. amyloliquefaciens* УКМ В-5113. Загальна продуктивність каротиноїдів була максимальною при вирощуванні на середовищах з цукрозою та мальтозою. Згаданий показник перевищував контрольні значення для штаму *B. subtilis* 1.1 у 1,8–3,9 рази та для штаму *B. amyloliquefaciens* УКМ В-5113 – у 1,7–2,3 рази, відповідно.

Слід зазначити, що за культивування штамів *B. subtilis* 1.1 та *B. amyloliquefaciens* УКМ В-5113 на середовищах з лактозою, крохмалем та тилозою достовірно зменшувався загальний вміст каротиноїдів ($p > 0,05$). Тоді як, за даними літератури, у штаму *Streptomyces* sp. T1027 крохмаль стимулює утворення каротиноїдів, що можливо пов'язано з відмінністю їх шляхів синтезу [9].



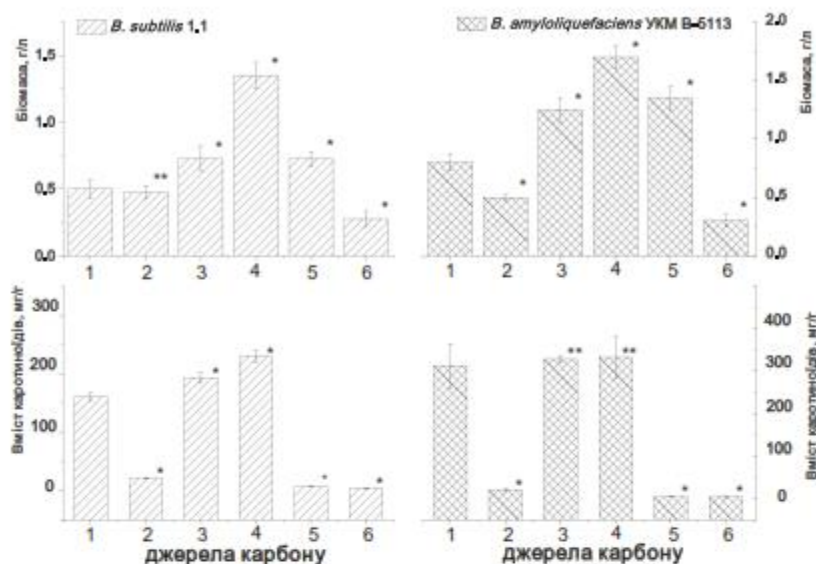


Рис. 2. Вплив дисахаридів та полісахаридів на накопичення біомаси та пігментоутворення штамів *B. subtilis* 1.1 і *B. amyloliquefaciens* УКМ В-5113

Примітка: 1 – глюкоза (контроль), 2 – лактоза, 3 – цукроза, 4 – мальтоза, 5 – крохмаль, 6 – тілоза; * – різниця достовірна ($p > 0,05$), ** – різниця недостовірна ($p > 0,05$)

Fig. 2. Disaccharides and polysaccharides influence upon biomass accumulation and pigment production of strains *B. subtilis* 1.1 and *B. amyloliquefaciens* UCM B-5113

Note: 1 – glucose (control), 2 – lactose, 3 – saccharose, 4 – maltose, 5 – starch, 6 – tilose; * – significant difference ($p > 0.05$), ** – nonsignificant difference ($p > 0.05$)

Оскільки спирти також використовуються як компоненти поживних середовищ, нами було вивчено їх вплив на ріст та продукування каротиноїдів бацилами. Встановлено, що досліджувані спирти не впливали (манітол) або інгібували (дульцитол, гліцерол, еритрит, сорбітол) ріст та пігментоутворення вищезгаданих штамів. Однак, відомо, що у стрептоміцетів манітол та гліцерол значно підвищують вихід каротиноїдів [1, 9].

Отже, серед усіх досліджених джерел карбону, на накопичення біомаси та синтез каротиноїдних пігментів штамів *B. subtilis* 1.1 та *B. amyloliquefaciens* УКМ В-5113 найбільш позитивно впливали арабіноза, фруктоза та мальтоза.

Іншими важливими складовими поживного середовища, що можуть змінювати ріст та біосинтетичну активність мікроорганізмів, є джерела нітрогену, оскільки останній входить до складу структурних елементів клітин, ферментів, нуклеїнових кислот та ін. [1, 3]. Нами встановлено, що найбільш сприятливими для росту та пігментоутворення досліджуваних штамів були амонійні солі (рис. 3).

Використання солей $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ та NH_4Cl забезпечувало достовірно найвищі ($p > 0,05$) рівні накопичення біомаси штамми *B. subtilis* 1.1 та *B. amyloliquefaciens* УКМ В-5113, що становили $1,7 \pm 0,1$, $1,2 \pm 0,1$ та $2,0 \pm 0,1$, $1,6 \pm 0,2$ г/л АСБ, відповідно (рис. 3). Однак, рівень пігментоутворення культур

за наявності у середовищах амонійних солей не відрізнявся від контрольного значення ($p > 0,05$). Загальна продуктивність каротиноїдів штамми *B. subtilis* 1.1 та *B. amyloliquefaciens* УКМ В-5113 була найбільшою на середовищі з $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ і складала 296 ± 11 та 640 ± 15 мг/л, відповідно.

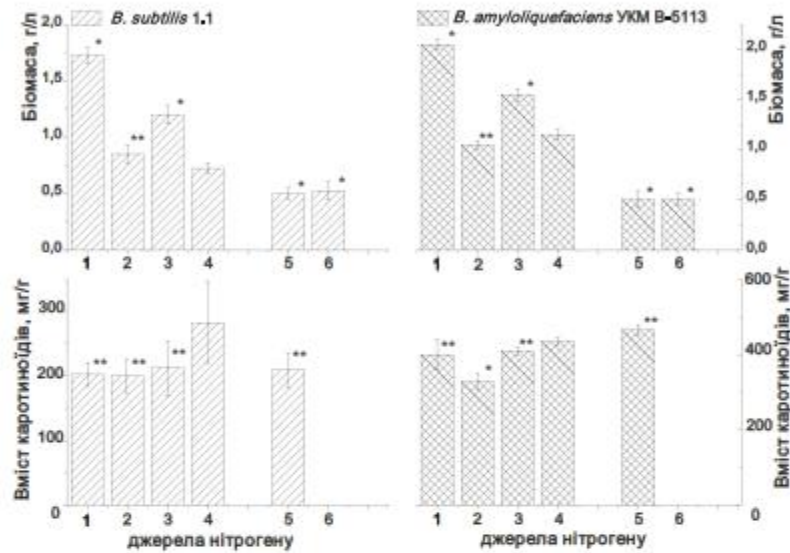


Рис. 3. Вплив джерел нітрогену на накопичення біомаси та пігментоутворення штамів *B. subtilis* 1.1 і *B. amyloliquefaciens* УКМ В-5113

Примітка: 1 – $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 2 – NH_4NO_3 , 3 – NH_4Cl , 4 – $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ (контроль), 5 – NaNO_3 , 6 – KNO_3 ; * – різниця достовірна ($p > 0,05$), ** – різниця недостовірна ($p > 0,05$)

Fig. 3. Nitrogen sources influence upon biomass accumulation and pigment production of strains *B. subtilis* 1.1 and *B. amyloliquefaciens* UCM B-5113

Note: 1 – $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, 2 – NH_4NO_3 , 3 – NH_4Cl , 4 – $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$ (control), 5 – NaNO_3 , 6 – KNO_3 ; * – significant difference ($p > 0.05$), ** – nonsignificant difference ($p > 0.05$)

Використання солей NaNO_3 та KNO_3 призводило до пригнічення росту обох культур та інгібування їх пігментоутворення, можливо через низьку активність нітрат- та нітритредуктаз. Проте, за даними літератури нітратні солі є оптимальними для накопичення каротиноїдів стрептоміцетами, що вказує на відмінність шляхів метаболізму нітрогену у бактерій [1, 9].

Нами встановлено, що серед органічних джерел нітрогену дріжджовий автолізат та соєве борошно забезпечували найкращі ростові показники штамів *B. subtilis* 1.1 та *B. amyloliquefaciens* УКМ В-5113 ($p > 0,05$). Останні при цьому накопичували $1,4 \pm 0,1$ і $1,3 \pm 0,1$ г/л АСБ та $1,5 \pm 0,1$ г/л АСБ відповідно, однак, продуктивність каротиноїдів була нижчою ніж на контрольному середовищі. Отже, оптимальними джерелами нітрогену для синтезу каротиноїдів штамми *B. subtilis* 1.1 та *B. amyloliquefaciens* УКМ В-5113 були неорганічні джерела



амонійного нітрогену. Отримані результати узгоджуються з даними отриманими А. Вана щодо дріжджеподібних грибів *Rhodotorula glutinis* [3].

У літературі зустрічаються дані щодо здатності катіонів металів стимулювати спороутворення та синтез каротиноїдних пігментів, оскільки вони є кофакторами ферментів, а також здатні виступати індукторами антиоксидантних систем захисту мікробної клітини [3, 8]. З огляду на це нами було досліджено вплив солей металів на ріст та каротинсинтезувальну здатність штамів *B. amyloliquefaciens* УКМ В-5113 та *B. subtilis* 1.1.

Встановлено, що FeSO_4 активував ріст штаму *B. subtilis* 1.1 та *B. amyloliquefaciens* УКМ В-5113 у 3 та 2,5 рази, відповідно, а рівень синтезу каротиноїдів було збільшено для обох штамів на 15% ($p > 0,05$). Загальна продуктивність каротиноїдів становила 309 ± 10 та 605 ± 12 мг/л. Слід зазначити, що за культивування штаму *Rhodotorula* sp. Y1621 на середовищі з FeSO_4 вихід каротиноїдів збільшувався у 2 рази порівняно з контролем [3].

У свою чергу MnSO_4 та FeCl_3 стимулювали ріст обох штамів у 2 рази, проте не впливали на рівень пігментоутворення. Інша група солей, а саме CaCl_2 та ZnSO_4 , не впливали на ріст досліджених штамів бацил, проте достовірно підвищували рівень синтезу пігментів на 10% ($p > 0,05$). Відомо, що для дріжджеподібних грибів *Rhodotorula glutinis* var. *glutinis* за культивування у присутності ZnSO_4 також відбувається збільшення рівня каротиноїдів, що можливо пов'язано з використанням цинку як кофактору ензимів, необхідних для синтезу пігментів [3]. Встановлено, що під впливом $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ кількість біомаси штамів *B. subtilis* 1.1 та *B. amyloliquefaciens* УКМ В-5113 не змінювалася, проте вони інгібували синтез каротиноїдів на 16–77%. Солі CuSO_4 та CdSO_4 інгібували ріст обох досліджених штамів у 5 разів порівняно з контролем та повністю пригнічували пігментоутворення, можливо за рахунок формування супероксидних аніонів, руйнації Fe-S кластерів та цитоплазматичної мембрани бактерій [5]. Отже, для оптимізації чи розробки нового середовища перспективним є використання катіонів FeSO_4 .

Відомо, що внаслідок варіювання компонентів поживного середовища змінюється якісний склад каротиноїдів, а отже, і значення максимумів спектрів поглинання. У всіх досліджених варіантах середовищ спектри поглинання каротиноїдів не зміщувалися і були стандартними для штамів *B. subtilis* 1.1 та *B. amyloliquefaciens* УКМ В-5113 [2]. Отримані дані вказують на сталість якісного складу пігментів за умов варіювання складових середовища.

Таким чином, оптимальними для накопичення біомаси та каротиногенезу обох досліджених штамів бактерій роду *Bacillus* серед джерел карбону, нітрогену та катіонів металів були арабіноза, мальтоза, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ та FeSO_4 . Загальна продуктивність штамів *B. subtilis* 1.1 та *B. amyloliquefaciens* УКМ В-5113 за культивування на середовищах з арабінозою, мальтозою, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ та FeSO_4 , була більшою ніж на контрольному у 2,1–3,9 та 1,6–2,7 рази, відповідно, при незмінному якісному складі пігментів.

УДК 579.66

А.А. Нечипуренко, М.А. Хархота, Л.В. Авдеева

Институт микробиологии и вирусологии имени Д.К. Заболотного НАН Украины,
ул. Академика Заболотного, 154, Киев ГСП, Д 03680, Украина,
тел.: (093) 762 30 83, e-mail: ne4upura@ukr.net

**ВЛИЯНИЕ ИСТОЧНИКОВ АЗОТА, УГЛЕРОДА
И СОЛЕЙ МЕТАЛЛОВ НА ПРОДУКТИВНОСТЬ
КАРОТИНСИНТЕЗИРУЮЩИХ ШТАММОВ *BACILLUS SUBTILIS*
1.1 И *B. AMYLOLIQUEFACIENS* УКМ В-5113**

Реферат

Цель. Исследовать влияние источников углерода, азота, солей металлов на продуктивность каротинсинтезирующих штаммов *B. amyloliquefaciens* УКМ В-5113 и *B. subtilis* 1.1. **Методы.** Динамику роста и пигментообразования каротинсинтезирующих штаммов определяли путем глубинного культивирования в периодических условиях с учетом биотехнологических показателей. Экстракцию пигментов осуществляли с использованием смеси хлороформа и метанола (2:1). Качественный состав каротиноидов оценивали по их спектрам поглощения. **Результаты.** Общая продуктивность каротиноидов для штаммов *B. subtilis* 1.1 и *B. amyloliquefaciens* УКМ В-5113 была наибольшей на средах с арабинозой, мальтозой, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ и FeSO_4 и составила 168 и 384 мг/л, 310 и 570 мг/л, 296 и 640 мг/л, 309 и 605 мг/л, соответственно. **Выводы.** Оптимальными для роста и синтеза каротиноидов обоих исследованных штаммов бактерий рода *Bacillus* среди источников углерода, азота и солей металлов были арабиноза, мальтоза, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ и FeSO_4 . Общая продуктивность штаммов *B. subtilis* 1.1 и *B. amyloliquefaciens* УКМ В-5113 при культивировании на средах с арабинозой, мальтозой, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ и FeSO_4 была больше чем на контрольной среде в 2,1–3,9 и 1,6–2,7 раза, соответственно, при неизменном качественном составе пигментов.

Ключевые слова: штаммы *B. amyloliquefaciens* УКМ В-5113, *B. subtilis* 1.1, пигментообразование, каротиноиды, источники карбона, нитрогена.

UDC 579.66

О. Nechypurenko, M. Kharhota, L. Avdeeva

Zabolotny Institute of Microbiology and Virology, NASU, 154, Acad. Zabolotny st.,
Kyiv, MSP, D 03680, Ukraine tel: +38 (093) 762 03 83, e-mail: ne4upura@ukr.net

**THE IMPACT OF CARBON, NITROGEN SOURCES AND METAL
SALTS ON PRODUCTIVITY OF CAROTENE SYNTHESIZING
STRAINS *BACILLUS SUBTILIS* 1.1 AND *B. AMYLOLIQUEFACIENS*
UCM B-5113**

Summary

Purpose. To investigate the impact of carbon, nitrogen sources and metal salts on the productivity of carotene synthesizing strains *B. amyloliquefaciens* UCM B-5113 and



B. subtilis 1.1. **Methods.** The features of growth and pigment production of investigated strains were determined by submerged cultivation in periodic conditions based on biotechnology parameters. The pigments extraction was carried out with the use of mixture of chloroform and methanol (2:1). The qualitative composition of carotenoids was assessed by their absorption spectra. **Results.** The highest total carotenoids productivity of strains *B. amyloliquefaciens* UCM B-5113 and *B. subtilis* 1.1 was on the media containing arabinose, maltose, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ and FeSO_4 and composed 168 and 384 mg/l, 310 and 570 mg/l, 296 and 640 mg/l, 309 and 605 mg/l, respectively. **Conclusion.** Arabinose, maltose, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ and FeSO_4 were the optimum sources of carbon, nitrogen and metal salts for growth and carotenoids synthesis by investigated *Bacillus* strains. Overall productivity of strains *B. subtilis* 1.1 and *B. amyloliquefaciens* UCM B-5113 was higher than on control medium at 2.1–3.9, and 1.6–2.7 times, respectively, with constant quality of pigment composition.

Key words: strains *B. amyloliquefaciens* UCM B-5113, *B. subtilis* 1.1, pigment formation, carotenoids, carbon, nitrogen sources.

СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Голембіовська С.Л., Тимошенко С.Г., Мацелюх Б.П. Вплив джерел вуглецю і азоту на біосинтез лікопіну у *Streptomyces globisporus* 4лсп // Мікробіологічний журнал. – 2010. – Т. 72, № 6. – С. 46–51.
2. Нечипуренко О.О. Природа та фізико-хімічні властивості каротиноїдних пігментів штамів *Bacillus* sp. 1.1 та *B. amyloliquefaciens* УКМ В-5113. / О. Нечипуренко, М. Хархота, Л. Авдєєва, Л. Зелена // XI Український біохімічний конгрес (6–10 жовтня 2014 року, Київ) : зб. тез. Доповідей. – Київ, 2014. – С. 34.
3. Banna A.A., Razeq A.M., Mahdy A.R. Some factors affecting the production of carotenoids by *Rhodotorula glutinis* var. *glutinis* // Food and Nutrition Sciences. – 2012. – Vol. 3. – P. 64–71.
4. Gorke B., Foulquier E., Galinier A. YvcK of *Bacillus subtilis* is required for a normal cell shape and for growth on Krebs cycle intermediates and substrates of the pentose phosphate pathway // Microbiology. – 2005. – Vol. 151. – P. 3777–3791.
5. Lemire J.A., Harrison J.J., Turner R.J. Antimicrobial activity of metals: mechanisms, molecular targets and applications // Nature Reviews Microbiology. – 2013. – Vol. 11. – P. 371–384.
6. Liu H., Wang Y. MEP pathway-mediated isopentenol production in metabolically engineered *Escherichia coli* // Microbial Cell Factories. – 2014. – Vol. 13. – P. 1–7.
7. Perez-Fons L., Bramley P.M., Fraser P.D. The optimisation and application of a metabolite profiling procedure for the metabolic phenotyping of *Bacillus* species // Metabolomics. – 2014. – Vol. 10, № 1. – P. 77–90.
8. Perez-Fons L., Steiger S., Khaneja R. Identification and the developmental formation of carotenoid pigments in the yellow/orange *Bacillus* spore-formers // Biochimica et Biophysica Acta. – 2011. – Vol. 1811. – P. 177–185.
9. Subhash V., Vishnupriya B., Selvam K. Characterization of marine *Streptomyces* sp. T1027 producing β -carotene under light induction // Am. J. PharmTech Res. – 2013. – Vol. 3. – P. 743–756.

Стаття надійшла до редакції 29.01.2015 р.

