

## Изучение состава питательной среды на процесс культивирования аскомицета *Penicillium chrysogenum* и биосинтез пенициллина

Мендуга Эмини Жоржетт, магистрант  
Темнов Михаил Сергеевич, кандидат технических наук, доцент  
Тамбовский государственный технический университет

**Аннотация.** Цель работы - проведение экспериментальных исследований процесса культивирования *Penicillium chrysogenum*. Было установлено, что для получения пенициллина аскомицета *Penicillium chrysogenum* (781 мкг/мл на 5 сутки культивирования) можно рекомендовать питательную среду, содержащую 32.84 г углерода, 0.95 г/л фосфора и 1,6 г/л азота.

**Ключевые слова:** культивирование, биомасса, аскомицеты, *Penicillium chrysogenum*.

## Study of the influence of three factors of the culture medium for the production of penicillin by *Penicillium chrysogenum*

Mendouga Emini Georgette, undergraduate student  
Temnov Mikhail S., candidate of technical Sciences, associate Professor  
Tambov State Technical University

**Abstract.** The objective was to conduct experimental studies of the cultivation process of *Penicillium chrysogenum*. It was found that for the production of penicillin ascomycete *Penicillium chrysogenum* (781 mcg/ml on the 5th day of cultivation), a nutrient medium containing 32.84 g of carbon, 0.95 g/l of phosphorus and 1.6 g / l of nitrogen can be recommended.

**Keywords:** cultivation, biomass, ascomycetes, *Penicillium chrysogenum*.

**DOI:** 10.5281/zenodo.3894521

### Материалы и методы

В качестве продуцента пенициллина использовали штамм *Penicillium Chrysogenum*, который был получен в лаборатории кафедры ТОПХПФГБОУ ВО «ТГТУ».

### Условия культивирования

Штамм выращивали на питательной среде Чапека (табл.1), в течение 72 ч при 30 °С в термостате с интенсивной аэрацией без перемешивания.

Таблица 1 – Твєдофазное культивирование (среда Чапека)

Состав	г/л	Состав	г/л
глюкоза	14,0	хлориднатрия	
нитраткалия		дигидрофосфат калия	
карбонаткальция		Железа сульфат	следы
сульфат магния		агар-агар	20,0

Затем полученный мицелий использовали для второй стадии выращивания. Глубинное культивирование биомассы микроскопического гриба с аэрацией (1 л/ч) при следующих фиксированных условиях:

- 1) концентрация посевного материала – 4 г/л титр
- 2) активная кислотность (рН) – 6.98...7.09;
- 3) температура культивирования – 30°С.

Характеристика образцов приведена в табл. 2.

Биомасса отделяется от культуральной жидкости фильтрацией, высушивается и взвешивается, концентрация пенициллина определяется в конце культивирования.

Экстракцию антибиотика из культуральной жидкости осуществляли с использованием бугилацетата (100 мл на 1 л) при уровне рН среды около 2.3-3. Смесь

выдерживают в холодильнике в течение 12 часов, после чего осуществляют отгонку экстрагента с помощью роторного испарителя. Концентрацию антибиотика определяли с использованием метода тонкослойной хроматографии и денситометра "Сорбил".

### Результаты и обсуждения

Результаты представлены в табл. 3. Наибольшая концентрация биомасса микроскопического гриба (Y[Бм]) в диапазоне от 11.7 до 13.2 г/л наблюдалась на питательных средах FM1, FM2, FM6 и FM7, что значительно выше по сравнению с другими образцами питательных сред.

Однако наибольшие концентрации пенициллина (Y[АБ]) были зафиксированы на средах FM5, FM6, FM7 и FM8 (561, 533, 781 и 640 мкг/мл соответственно) (табл. 3).

Наибольшее количество пенициллина синтезировалось при использовании питательной среды, содержащей источник углерода с концентрацией от 28.63 до 32.84 г/л, источник азота 2.7 г/л и концентрацию фосфора 0.95 г / л.

Таблица 2 – Составы питательных сред

№ образца	Глюкоза мг/л	Сахароза мг/л	Кукурузный экстракт мг/л	Хлорид аммония мг/л	Калий фосфорно кислый, мг/л	Сульфат магния мг/л	Меловое молоко, мг/л	Вода, мл
1	40	40	20	7.63	2	0.125	5	1000
2	40	30	20	7.63	2	0.125	5	1000
3	40	40	20	3.43	2	0.125	5	1000
4	40	30	20	3.43	2	0.125	5	1000
5	40	40	20	7.63	6	0.125	5	1000
6	40	30	20	7.63	6	0.125	5	1000
7	40	40	20	3.43	6	0.125	5	1000
8	40	30	20	3.43	6	0.125	5	1000

Таблица 3 – Состав питательных сред (ПС), используемых для культивирования микроскопического гриба *Penicillium chrysogenum*

	x1	x2	x3	x1	x2	x3	x4	x5	Y[АБ]	Y[Бм]	Y[pH]
	С	N	P	m(C),	m(N),	m(P),	Т°, С	Аэрация, л/мин	мкг/мл	г/л	
FM1	+	+	-	32.84	2.7	0.37	30	5	484	12.5	7.6
FM2	-	+	-	28.63	2.7	0.37	30	5	442	11.7	7.5
FM3	+	-	-	32.84	1.6	0.37	30	5	537	8.6	7.6
FM4	-	-	-	28.63	1.6	0.37	30	5	515	8.2	7.5
FM5	+	+	+	32.84	2.7	0.95	30	5	561	13.2	7.6
FM6	-	+	+	28.63	2.7	0.95	30	5	533	12.8	7.6
FM7	+	-	+	32.84	1.6	0.95	30	5	781	9.4	7.6
FM8	-	-	+	28.63	1.6	0.95	30	5	640	8.7	7.6

#### Выводы

Оптимизация культуры производства пенициллина на основе изменения трех веществ в среде показала, что среды с высокой биомассой не всегда являются средами, на которых производится наибольшее количество метаболитов. Поскольку эти компоненты, взятые в разных концентрациях, могут по-разному действовать на клеточный метаболизм и приводить к производству ферментов, участвующих в производстве биомассы (концентрация азота равна 2.7

г/л), или к производству ферментов, участвующих в производстве вторичных метаболитов (концентрация азота равна 1.7 г / л). Из этого следует, что для получения большого количества пенициллина необходимо использовать питательную среду, содержащую источник углерода - глюкозу (40 г/л) и сахарозу (30-40 г/л), источник азота - хлористый аммония (3.43 г/л) и в источника фосфора - фосфат калия (6 г/л).

#### Литература:

- Justin P., Paul G.C., Nienow A.W., Thomas C.R. Зависимость роста, морфологии, вакуолизации и продуктивности *Penicillium chrysogenum* в заквасках периодического действия от типа рабочего колеса и интенсивности перемешивания. [Dependence of *Penicillium chrysogenum* growth, morphology, vacuolation and productivity in fed-batch fermentation on impeller type and agitation intensity.]. Biotech. Bioeng. 59 no 6, 762-775 с
- Teoh, Y.P., M.M. Donand S. Ujang, 2011. Улучшение питательных веществ с использованием статистической оптимизации для роста *Schizophyllum commune* и его противогрибковой активности против древесных деградирующих грибов каучуковой древесины [Nutrient improvement using statistical optimization for growth of *Schizophyllum commune* and its antifungal activity against wood degrading fungi of rubber wood]. Biotechnol. Prog., no 28, 332-341 с
- А.Н. Гайдадин. Применение полного факторного эксперимента при проведении исследований: метод. указания/сост. А.Н. Гайдадин, С.А. Ефремова. ВолгГТУ, Волгоград, 2008. -16 с.
- Луканин А. В. Инженерная биотехнологии : основы технологии микробиологических производств. StudRef. Москва, 2017, 297 с