

С. А. АЙТКЕЛЬДИЕВА, Э. Р. ФАЙЗУЛИНА, А. А. КУРМАНБАЕВ,
Т. Ш. ЗАЙТОВА, А. Ж. СУЛТАНОВА, Е. А. СВИРКО

(РГП «Институт микробиологии и вирусологии» КН МОН РК, Алматы, Республика
Казахстан)

ИЗУЧЕНИЕ ЛИПОЛИТИЧЕСКОЙ И ОКИСЛИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ КУЛЬТУР МИКРООРГАНИЗМОВ – ПРОДУЦЕНТОВ ЛИПАЗ

Аннотация. Изучена липолитическая активность штаммов бактерий – продуцентов липаз. Результаты исследования показали, что активность липазы варьировала от 69 до 302 мкМ олеиновой кислоты/мл/ч. Наибольшая липолитическая активность отмечена у штаммов *Serratia sp.* БЖ-1 и БЖ-2 – 302 и 218 мкМ олеиновой кислоты/мл/ч соответственно. Показано, что исследуемые штаммы способны утилизировать жиры растительного (подсолнечное и оливковое масла) и животного (говяжий и свиной жиры) происхождения. Наиболее активным оказался штамм *Serratia sp.* БЖ-1, у которого окислительная способность была самая высокая при культивировании на всех субстратах – 91-198 мг CO₂/ г субстрата.

Ключевые слова: липаза, липолитическая активность, микроорганизмы – продуценты липаз, растительное масло, животный жир.

Тірек сөздер: липаза, липолитикалық белсенділік, микроорганизмдер – липаза продуценттері, өсімдік майы, жануар майы.

Keywords: lipase, lipolytic activity, microorganisms – producers of lipase, vegetable oil, animal fat.

Развитие пищевых предприятий и расширение сети быстрого питания за последние годы сделало особенно актуальным решение проблемы очистки сточных вод предприятий пищевой промышленности от жиров, масел, белков и других органических загрязнений. Особо актуальное значение в настоящее время приобрела проблема удаления отложения жиров в канализационных системах предприятий и утилизации жира в жиρούловителях.

Одним из перспективных способов решения этих проблем является биоферментная технология разложения жиров и растительных масел на локальных очистных сооружениях, основанная на использовании микробных липаз и микроорганизмов, способных к их продуцированию [1-3]. Преимущество этого метода состоит в том, что активные штаммы микроорганизмов-деструкторов селекционируются довольно легко, культивировать их можно в больших объемах на сравнительно дешевых средах, к тому же среди микроорганизмов встречаются штаммы, выделяющие в среду сразу несколько ферментов, что увеличивает практическую ценность таких продуцентов. Основой биопрепаратов могут послужить как отдельные штаммы микроорганизмов, так и селекционированные консорциумы.

Таким образом, поиск активного продуцента липаз, который мог бы стать основой отечественного биопрепарата для локальной очистки жиросодержащих сточных вод, является весьма актуальным.

Целью настоящей работы было изучение липолитической и окислительной активности

культур микроорганизмов – продуцентов липаз.

Материалы и методы

Липолитическую активность микробной биомассы определяли по модифицированному методу Ota и Yamada [4]. Культуры выращивали в колбах Эрленмейера объемом 750 мл с 100 мл среды Раймонда на качалке со скоростью вращения 180 об/мин при 28-29°C. В качестве субстрата использовали 40% эмульсию оливкового масла в 2%-ном растворе поливинилового спирта. Реакционная смесь включала следующие компоненты: 1 мл культуральной жидкости, 4,5 мл 0,05 М фосфатного буфера pH 8,0, 5 мл эмульсии оливкового масла. Гидролиз проводили в течение часа при 37°C, после чего добавляли 10 мл этанола и продукты гидролиза оттитровывали 0,05 М раствором NaOH в присутствии 1%-ного раствора фенолфталеина. Контрольные образцы титровали сразу же без выдерживания в термостате, добавив этанол. Активность липазы выражали в микромолях олеиновой кислоты, освобождающейся за 1 час при гидролизе субстрата 1 мл культуральной жидкости.

Окислительную активность исследуемых культур определяли по выделению углекислого газа [5]. Культивирование микроорганизмов проводили в колбах объемом 500 мл. В качестве питательной среды использовали 250 мл минеральной среды с добавлением 1% источника углерода и 5 мл суточной культуры микроорганизмов. Количество образованного углекислого газа определяли титрованием 0,1 н. HCl. В качестве поглотителя использовали 0,1 н. NaOH. Контролем служили колбы со средой, не засеянные микроорганизмами. Длительность эксперимента составляла 3 суток.

Повторность опытов 3-кратная.

Результаты и обсуждение

Была изучена липолитическая активность выделенных из стоков предприятий пищевой промышленности штаммов, которую определяли титрованием образующихся жирных кислот 0,1н KOH (таблица 1).

Таблица 1 – Липолитическая активность выделенных культур

Штамм	Активность липазы, мкМ олеиновой кислоты/мл/ч
<i>Serratia sp.</i> БЖ-1	302
<i>Serratia sp.</i> БЖ-2	218
<i>Bacillus sp.</i> КП-1	138
<i>Pseudomonas sp.</i> КП-2	115
<i>Bacillus sp.</i> КП-3	168
<i>Bacillus sp.</i> КП-4	134

Результаты исследования показали, что активность липазы варьировала от 115 мкМ олеиновой кислоты/мл/ч до 302 мкМ олеиновой кислоты/мл/ч. Наибольшая липолитическая активность отмечена у штаммов *Serratia sp.* БЖ-1 и БЖ-2 – 302 и 218 мкМ олеиновой кислоты/мл/ч соответственно. У остальных штаммов активность липазы не превышала 200 мкМ олеиновой кислоты/мл/ч. Наименее активным был штамм *Pseudomonas sp.* КП-2 – 115 мкМ олеиновой кислоты/мл/ч.

На следующем этапе была изучена окислительная способность наиболее активных культур *Serratia sp.* БЖ-1 и БЖ-2 по отношению к жирам растительного (оливковое и подсолнечное масла) и животного (свиной и говяжий жиры) происхождения (таблица 2).

Таблица 2 – Окислительная способность отобранных микроорганизмов по отношению к растительным и животным жирам, мг CO₂/г субстрата

Субстрат	Штамм	
	БЖ-1	БЖ-2
Подсолнечное масло	198	194
Оливковое масло	154	122
Свиной жир	91	88
Говяжий жир	120	60

Как следует из данных, представленных в таблице 2, окислительной способностью по отношению к различным растительным и животным жирам изучаемые штаммы бактерий обладали в разной степени. При этом растительные масла окислялись эффективнее, чем животные жиры.

Окислительная активность исследуемых штаммов по отношению к растительным маслам, содержащим в своем составе много ненасыщенных жирных кислот, достигала величин 122-198 мг CO₂/г субстрата. Лучше подвергалось деструкции подсолнечное масло. Наибольшую активность показал штамм БЖ-1 – 198 мг CO₂/г субстрата на подсолнечном и 154 мг CO₂/г субстрата на оливковом маслах.

Жиры животного происхождения окислялись исследуемыми штаммами сложнее, что, вероятно, связано с наличием в их составе до 50 мас.% насыщенных жирных кислот. Величина окислительной активности на животных жирах варьировала от 60 до 120 мг CO₂/г субстрата.

Наибольшую окислительную активность на жирах животного происхождения, равную 120 мг CO₂/г субстрата, проявил штамм БЖ-1 при культивировании на говяжьем жире. На свином жире его активность была ниже, тогда как штамм БЖ-2, наоборот, эффективнее окислял этот субстрат.

Таким образом, все исследуемые штаммы показали способность утилизировать жиры растительного и животного происхождения. Наиболее активным оказался штамм *Serratia sp.* БЖ-1, у которого окислительная способность была самая высокая при культивировании на всех субстратах.

ЛИТЕРАТУРА

1 Федосеева Л.А., Бурьлин С.Ю., Соколовский В.Д. Исследование возможности определения и применения липазы, иммобилизованной на углеродминеральных

сорбентах, для очистки жиросодержащих сточных вод // Химия и технология воды. – 1990. – Т. 12, № 7. – С. 655-657.

2 Lefebvre X., Paul E., Mauret M., Baptiste P., Capdeville B. Kinetic characterization of saponified domestic lipid residues aerobic biodegradation // *Wat. Res.* – 1998. – Vol. 32, N 10. – P. 3031-3038.

3 Becker P., Koester D., Popov M. N., Markossian S., Antranikian G., Maerkl H. The biodegradation of olive oil and the treatment of lipid-rich wool scouring wastewater under aerobic thermophilic conditions // *Wat. Res.* – 1999. – Vol. 33, N 3. – P. 653-660.

4 Ota Y., Yamada K., Tomizuka N. Lipase from *Candida cylindraceae*. I. Purification and properties // *Agric. and Biol. Chem.* – 1966. – Vol. 30. – P. 576-584.

5 Поскрякова Н.В. Разработка основы биопрепарата для деструкции жиров: Дис. ... канд. биол. наук. – 2007. – 123 с.

REFERENCES

1 Fedoseeva L.A., Burylin S.U., Sokolovski V.D. *Chimiya i tehnologiya void*, **1990**, 12, 655-657 (in Russ.).

2 Lefebvre X., Paul E., Mauret M., Baptiste P., Capdeville B. *Wat. Res.*, **1998**, 32, 3031-3038.

3 Becker P., Koester D., Popov M. N., Markossian S., Antranikian G., Maerkl H. *Wat. Res.*, **1999**, 33, 653-660.

4 Ota Y., Yamada K., Tomizuka N. *Agric. and Biol. Chem.*, **1966**, 30, 576-584.

5 Poskryakova N.V. Diss. na soisk. stepeni kand. biol. nauk, **2007**, 123.

Резюме

С. А. Айткелдиева, Э. Р. Файзулина, А. А. Құрманбаев, Т. Ш. Заитова, А. Ж. Сұлтанова,
Е. А. Свирко

(ҚР БЖҒМ ҒК «Микробиология және вирусология институты» РМК, Алматы, Қазақстан Республикасы)

ЛИПОЛИТИКАЛЫҚ ЖӘНЕ [ТОТЫҚТАНДЫРАТЫН](#) БЕЛСЕНДІ МИКРООРГАНИЗМДЕР – ЛИПАЗА ПРОДУЦЕНТТЕРІН ЗЕРТТЕУ

Липаза продуценттері – бактериялар штамдарының липолитикалық белсенділігі зерттелді. Зерттеу нәтижелері көрсеткендей, липаза белсенділігі 69-дан 302 мкМ олеин

қышқылы мл/сағ аралығында құбылды. *Serratia sp.* БЖ-1 и БЖ-2 штамдарында 302 және 218 мкМ олеин қышқылы мл/сағ – на сәйкес ең жоғарғы липолитикалық белсенділік көрсетті. Зерттелген штамдар өсімдік (күнбағыс және зәйтүн майы) және жануар (сиыр және шошқа майы) майын кәдеге асыра алатындығы анықталды. Ең белсенді штамм – *Serratia sp.* БЖ-1, себебі тотықтандыру қасиеті барлық субстраттарда өсірген кезде ең жоғары болды – 91-198 мг CO₂/г субстрат.

Тірек сөздер: липаза, липолитикалық белсенділік, микроорганизмдер – липаза продуценттері, өсімдік майы, жануар майы.

Summary

S. A. Aitkeldieva, E. R. Faizulina, A. A. Kurmanbayev, T. Sh. Zaitova, A. Zh. Sultanova, E. A. Svirko

(«Institute of microbiology and virology» CS MES RK, Almaty, Republic of Kazakhstan)

STUDY OF LIPOLYTIC AND OXIDATIVE ACTIVITY OF THE CULTURE OF MICROORGANISMS – PRODUCERS OF LIPASE

The lipolytic activity of strains of bacteria - producers of lipases was studied. The results showed that the lipase activity varied from 69 to 302 μM oleic acid/ml/h. The highest lipolytic activity was observed in strains *Serratia sp.* BZ-1 and BZ-2 – 302 and 218 μM oleic acid/ml/h respectively. It is shown that the studied strains are able to utilize vegetable oils (olive oil and sunflower oil) and animal fats (beef and pork fat). The most active was the strain *Serratia sp.* BZ-1, in which the oxidative capacity was highest when cultured on all substrates - 91-198 mg CO₂/g of substrate.

Keywords: lipase, lipolytic activity, microorganisms – producers of lipases, vegetable oil, animal fat.

Поступила 17.07.2013 г.