УДК 628.35

С. А. АЙТКЕЛЬДИЕВА, Э. Р. ФАЙЗУЛИНА, Т. Ш. ЗАИТОВА,
А. Ж. СУЛТАНОВА, А. А. САБДЕНОВА, С. А. БЕКТЕМИСОВА

(РГП «Институт микробиологии и вирусологии» КН МОН РК, г. Алматы)

ИЗУЧЕНИЕ ВЛИЯНИЯ pH СРЕДЫ И ТЕМПЕРАТУРЫ НА ДЕСТРУКЦИЮ РАСТИТЕЛЬНЫХ МАСЕЛ МИКРООРГАНИЗМАМИ – ПРОДУЦЕНТАМИ ЛИПАЗ

S.A. Aitkeldiyeva, E.R. Faizulina, T.Sh. Zaitova, A Zh. Sultanova, A.A. Sabdenova, S.A. Bektemisova

(SNE "Institute of microbiology and virology" KS MES RK, Almaty)

THE INFLUENCE OF THE MEDIUM pH AND TEMPERATURE ON THE DESTRUCTION OF VEGETABLE OILS BY THE MICROORGANISMS – PRODUCERS OF LIPASE

Key words: lipase, lipolytic activity, microorganisms – producers of lipase, medium pH, temperature, destruction, vegetable oils.

Abstract: The influence of pH and temperature on the degradation of vegetable oils by the strains of lipolytic microorganisms BZ-1 and BZ-2 were studied. The results showed that the degree of degradation of vegetable oils increased with growing pH. The strains showed the highest activity at pH 9. Optimum temperature for the oxidation of fat is 30-37 °C, at which the degree of destruction was more than 60%.

Аннотация. Изучено влияние pH среды и температуры на деструкцию растительных масел штаммами липолитических микроорганизмов БЖ-1 и БЖ-2. Результаты исследования показали, что степень деструкции растительных масел увеличивалась с возрастанием pH среды. Наибольшую активность штаммы проявили при pH 9. Оптимальной температурой для окисления жиров является 30-37 °С, при которой степень их деструкции составляла более 60%.

Ключевые слова: липаза, липолитическая активность, микроорганизмы-продуценты липаз, pH среды, температура, деструкция, растительные масла

Тірек сөздер: липаза, липолитикалық белсенділік, липаза продуценттері-микроорганизмдер, орта pH-ы, темпертура, деструкция, өсімдік майлары.

Появление энзимологии представляет собой важный прорыв в индустрии биотехнологий. Основную долю рынка промышленных ферментов занимают гидролитические ферменты, такие как протеазы, амилазы, амидазы, эстеразы и липазы.

В последнее время липазы используются как ключевые ферменты в стремительно развивающейся сфере биотехнологии, благодаря их многогранным свойствам, которые находят применение в широком спектре промышленного значения, например, как пищевые технологии, моющие средства, химическая промышленность и биомедицинские науки [1, 2].

Липазы являются продуктами жизнедеятельности микроорганизмов. Бактериальные липазы играют важную роль на коммерческих предприятиях. К одним из основных продуцентов фермента относятся бактерии родов *Bacillus*, *Pseudomonas*, *Burkholderia*.

Для промышленных целей наибольший интерес представляют внеклеточные ферменты, выделяемые микроорганизмами в окружающую среду, так как их дальнейшая очистка значительно проще и дешевле, чем препаратов из внутриклеточных ферментов [3].

Спектр применения микробных липаз достаточно широк. Эффективность их использования зависит от ряда факторов, прежде всего от их специфичности и условий проведения конкретного биотехнологического процесса. Большинство липаз активны в широком диапозоне pH и температуры, хотя щелочные бактериальные липазы являются более распространенными.

В большинстве случаев бактериальные липазы имеют оптимум действия в диапазоне pH от нейтрального (pH 7,0) до щелочного (pH 11,0) [4]. Оптимальные значения pH среды для выращивания дрожжевых продуцентов липазы находятся в широком диапазоне от 2 до 10 и различаются у разных культур. Согласно большинству литературных данных, микроскопические грибы активно развиваются и интенсивно образуют липазу при pH 4,2-7,5 [5].

Оптимальная температура для синтеза липазы обычно соответствует температуре роста микроорганизма. В основном бактериальные липазы имеют температурный оптимум в диапазоне от 30 до 60°С. Однако, существуют данные о бактериальных липазах с оптимумами, лежащими в более низких или высоких температурных пределах [4].

Целью исследований являлось изучение влияния pH среды и температуры на деструкцию растительных масел бактериальными штаммами – продуцентами липаз.

Материалы и методы

Объектами исследований служили штаммы бактерий, обладающие липолитической активностью *Aeromonas salmonicida* БЖ-1 и *Aeromonas piscicola* БЖ-2.

Эксперименты по изучению влияния pH среды на деструкцию растительных масел (оливковое, кукурузное, подсолнечное) штаммами *Aeromonas salmonicida* БЖ-1 и *Aeromonas piscicola* БЖ-2 проводили в колбах объемом 500 мл, содержащих по 100 мл среды Раймонда с разной pH (4, 5, 7, 8, 9). В качестве единственного источника углерода вносили растительные масла в количестве 1 мас.%. Инокулят вносили в виде суточной культуры микроорганизмов с содержанием клеток 10^9 КОЕ/мл. Культивирование проводили при комнатной температуре, на качалке со скоростью вращения 180 об/мин.

Эксперименты по изучению влияния температуры на деструкцию растительных масел проводили в колбах объемом 500 мл, содержащих по 100 мл среды Раймонда. В качестве единственного источника углерода вносили растительные масла в количестве 1 мас.%. Инокулят вносили в виде суточной культуры микроорганизмов с содержанием клеток 10^9 КОЕ/мл. Культивирование проводили при температуре 5, 22, 30, 37, 50 °С.

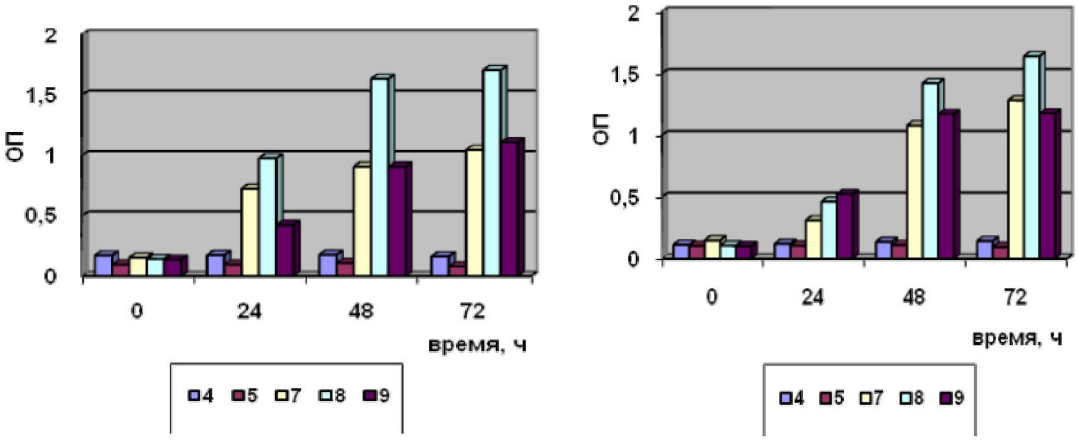
Остаточное содержание масел определяли гравиметрическим методом после экстракции гексаном.

Результаты и обсуждение

Изучено влияние pH среды и температуры на деструкцию растительных масел (оливковое, кукурузное, подсолнечное) штаммами *Aeromonas salmonicida* БЖ-1 и *Aeromonas piscicola* БЖ-2.

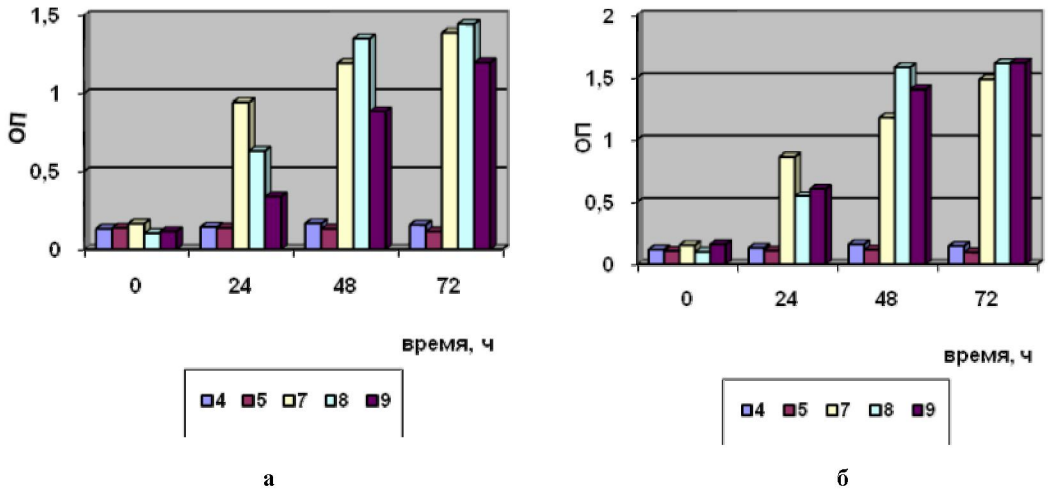
Штаммы культивировали на среде Раймонда с 1% растительного масла при pH 4, 5, 7, 8, 9 и при температуре 5, 22, 30, 37, 50 °С в течение 3 суток. Остаточное масло экстрагировали гексаном, степень деструкции определяли гравиметрическим методом.

Результаты исследования показали, что кислая среда отрицательно влияла на рост штаммов липолитических микроорганизмов (рисунки 1, 2, 3). Прирост биомассы был незначительный. В нейтральной среде оптическая плотность культуральной жидкости увеличивалась в 7-8 раз при росте штаммов БЖ-1 и БЖ-2 на оливковом и подсолнечном масле, в 8-9 раз – при росте на кукурузном масле. В слабо щелочных условиях биомасса возрастала в 12-15 раз, в щелочных – в 8-10 раз.



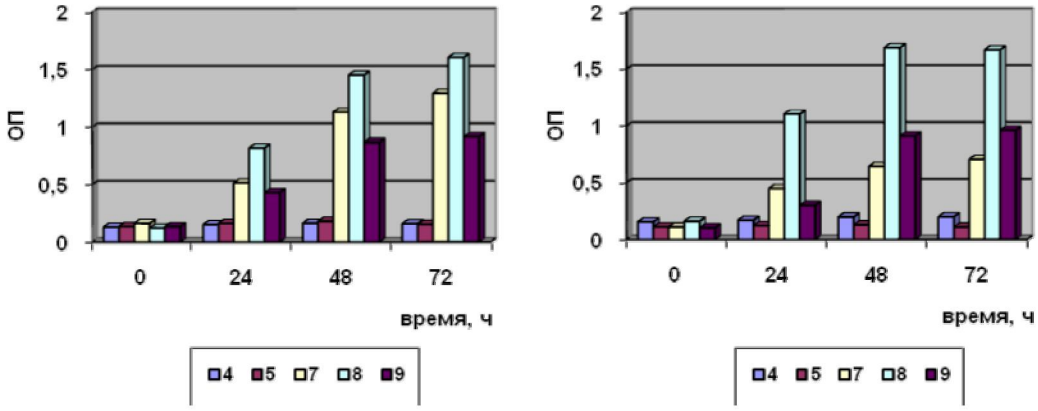
а б

Рисунок 1 – Влияние pH среды на рост штаммов БЖ-1 (а) и БЖ-2 (б) на оливковом масле



а б

Рисунок 2 – Влияние pH среды на рост штаммов БЖ-1 (а) и БЖ-2 (б) на кукурузном масле



а б

Рисунок 3 – Влияние pH среды на рост штаммов БЖ-1 (а) и БЖ-2 (б) на подсолнечном масле

Результаты гравиметрического анализа показали, что степень деструкции растительных масел увеличивалась с возрастанием pH среды (таблица 1). Наибольшую активность штаммы проявили при pH 9.

Таблица 1 – Утилизация растительных масел штаммами БЖ-1 и БЖ-2 при разных pH среды

Штамм	Степень деструкции, %								
	оливковое масло			кукурузное масло			подсолнечное масло		
	pH 7	pH 8	pH 9	pH 7	pH 8	pH 9	pH 7	pH 8	pH 9
БЖ-1	57,2	62,5	78,1	56,1	60,4	70,6	59,7	53,6	60,3
БЖ-2	56,5	60,2	73,6	53,9	58,6	67,5	58,1	53,0	58,5
контроль	9,5	9,3	8,7	8,5	9,8	8,4	9,1	8,9	8,6

В щелочных условиях лучше всего окислялось оливковое масло (60,3-78,1%). Наименьшая степень деструкции в этих условиях отмечена для подсолнечного масла – 53,0-60,3%, тогда как в нейтральной среде, наоборот, оно утилизировалось лучше всего – 58,1-59,7%. Наименьшую активность при pH 7 штаммы проявили на кукурузном масле.

Исследовано влияние температуры (5, 22, 30, 37, 50 °С) на рост штаммов БЖ-1 и БЖ-2 на растительных маслах.

Результаты показали, что оптимальной для роста липолитических культур является температура 30°С (рисунки 4, 5, 6). Биомасса в этих условиях возрастала в 7-9 раз. При 22 и 37°С прирост биомассы снижался в 2-3 раза. При температуре 5 и 50°С штаммы БЖ-1 и БЖ-2 росли слабо.