

АКТИВНОСТЬ ЩЕЛОЧНЫХ ГИДРОЛАЗ БАКТЕРИАЛЬНЫХ КУЛЬТУР, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ТЕХНОГЕННОЙ СРЕДЫ

Шилова А.В.¹, Максимов А.Ю.^{1,2}, Максимова Ю.Г.^{1,2}

¹*«Институт экологии и генетики микроорганизмов Уральского отделения Российской академии наук» - филиал Пермского федерального исследовательского центра УрО РАН, Пермь*

²*Пермский государственный национальный исследовательский университет*

Прикладное значение ферментов как реагентов для технологических процессов растет с привлечением внимания к проблемам экологии производства и развитию биотехнологий. Ферменты – биокатализаторы биохимических процессов, представляют собой биологически активные белки, функционирующие в условиях, благоприятных для жизни организмов, из которых они выделены [2].

Использование высокоактивных биологических катализаторов является перспективным направлением совершенствования технологических процессов в перерабатывающих отраслях промышленности. Анализ мирового биотехнологического рынка показывает, что востребованным коммерческим продуктом являются ферментные препараты. Их производство постоянно возрастает. Основными продуцентами промышленных ферментных препаратов являются грибные культуры и бактерии. Препараты микробного происхождения, особенно гидролитического действия, используются наиболее масштабно. Микроорганизмы являются наиболее дешевым и технологичным источником ферментов. Важнейшими сферами применения ферментных препаратов являются производство моющих средств, пищевая биотехнология и переработка сельскохозяйственного сырья.

Ключевыми факторами в биотехнологии ферментных препаратов являются штаммы – продуценты целевых ферментов, необходимых для эффективной конверсии биополимеров [4, 5, 6].

Из нескольких тысяч известных ферментов наиболее широко используются гидролитические, в частности, амилазы и целлюлазы.

Целлюлолитические ферментные препараты используются при обработке целлюлозы. Микроорганизмы способны синтезировать целый комплекс целлюлолитических ферментов, которые последовательно катализируют процесс гидролиза целлюлозы до олигосахаридов, дисахаридов и глюкозы. Такие ферментные препараты нашли широкое применение в сельском хозяйстве в качестве добавок к кормам жвачных животных, а также в целлюлозо-бумажной, медицинской и пищевой промышленности [7].

Амилолитические ферменты также используются в сельском хозяйстве (в рационах с высоким содержанием зерна и картофеля, для эффективного

биокатализа полимеров зернового сырья), в пищевой отраслях промышленности [6, 3].

Особый интерес и перспективное применение в биотехнологии представляют ферменты алкалофильных и алкалотолерантных микроорганизмов. Данные микроорганизмы широко распространены в условиях, в которых высокие значения рН сочетаются с высокими концентрациями солей. Их способность работать в условиях высокой засолённости и в щелочной среде делает их востребованными в производстве моющих средств с анионными детергентами и/или содой, а также в биоконверсии отходов животноводства (навоз и куриный помёт сочетают высокие концентрации растворимых веществ и щелочные значения рН) и отходов щелочной варки целлюлозы в целлюлозно-бумажной промышленности.

В данной работе исследована амилолитическая и целлюлолитическая активность бактериальных культур, выделенных из искусственной среды с щелочными значениями рН и высокой минерализацией.

Образцы для проведения микробиологических исследований были отобраны с территории действующего шламохранилища завода ОАО «Сода» г. Березники (Пермский край, Россия). Шламонакопитель расположен на северо-западной окраине г. Березники на левом берегу р. Кама. Площадь действующей и старой карты (рис.1) составляет около 244 км². По ориентировочным расчетам объем шлама в шламонакопителе в настоящее время превышает 10 млн м³ [1].



Рисунок 1 – Спутниковая карта шламохранилища Березниковского содового завода
(URL: <https://www.google.com/maps/place/Березники>)

Определено количество жизнеспособных бактерий при высеве на среды с селективным субстратом: крахмал и целлюлоза. В образцах грунта старого содового озера отмечено высокое содержание бактерий, обладающих амилолитической и целлюлолитической активностью, наибольшим на глубине около 5 см (до $5,1 \times 10^9$ КОЕ/г). Установлено, что образцы шламохранилища содержат меньшее количество микроорганизмов (на 4-5 порядков), в сравнении с территорией старого содового озера. В осадке шламохранилища обнаружено незначительное количество микроорганизмов, утилизирующих крахмал и целлюлозу $2-4,4 \times 10^4$ КОЕ/г. Однако в образцах ризосферы растений прибрежной зоны количество микроорганизмов, утилизирующих полисахариды, повышалось до $8,4 \times 10^8$ КОЕ/г.

Амилолитическая активность изучена у 29-ти бактериальных культур, выделенных из проб старого содового озера и шламохранилища. Все культуры проявили активность амилазы. Среди образцов супернатанта максимальная активность (30,32 мкмоль/мин/л) отмечена у изолята, выделенного из проб грунта старого содового озера с глубины 5 см. Высокую активность амилазы проявили изоляты, отобранные с поверхности старого содового озера и с глубины 10 см (до 16,5 мкмоль/мин/л), а также изоляты, выделенных из проб шламохранилища: *Arthrobacter agilis* (16,11 мкмоль/мин/л) и *Paenisporasarcina quisquiliarum* (14,83 мкмоль/мин/л). Наибольшая активность амилазы, связанной с клетками отмечена у культуры *Paenisporasarcina quisquiliarum* (20,03 мкмоль/мин/л), выделенной из проб шламохранилища. Культуры *Micricella putealis* также проявили высокую амилолитическую активность (до 15,94 мкмоль/мин/л).

У 11 бактериальных культур, выделенных из проб грунта старого содового озера и шламохранилища, исследована целлюлолитическая активность. Изучаемые образцы характеризуются внеклеточной активностью целлюлазы. Максимальная активность отмечена у изолятов, выделенных из ризосферы растений и осадка шламохранилища (до 0,61 мкмоль/мин/л). Также высокую активность проявил изолят, выделенный из проб старого содового озера (0,57 мкмоль/мин/л).

Таким образом, скрининг амилолитической и целлюлолитической активности бактериальных изолятов, выделенных из искусственной щелочной среды позволил выявить наиболее перспективные изоляты.

Исследование выполнено при финансовой поддержке РФФИ в рамках научного проекта № 19-34-90103

Литература

1. Блинов С.М., Максимович Н.Г., Найданова Н.Ф., Шлыков В.Г., Потапов С.С. Минералогические основы утилизации отходов ОАО «Березниковский содовый завод» // Минералогия техногенеза. 2003. Т. 4. С. 51-55.

2. Болотова К.С., Новожилов Е.В. Применение ферментных технологий для повышения экологической безопасности целлюлозно-бумажного производства // Химия растительного сырья. 2015. № 3. С. 5–23.

3. Кузнецова Е.А., Черепнина Л.В. Ферменты: структура, свойства и применение.: Учеб.-метод. пособие для высшего профессионального образования / Е.А. Кузнецова, Л.В. Черепнина. Орел: ФГБОУ ВПО «Госуниверситет - УНПК», 2013. 175 с.

4. Поляков В.А., Римарева Л.В. Теоретические и практические аспекты развития спиртовой, ликероводочной, ферментной, дрожжевой и уксусной отраслей промышленности спиртовой, ликероводочной, ферментной, дрожжевой и уксусной отраслей промышленности: сборник научных трудов. М.: ВНИИПБТ, 2011. 298 с.

5. Поляков В.А., Римарева Л.В. Перспективные ферментные препараты и биотехнологические процессы в технологиях продуктов питания и кормов: Сборник научных трудов / под ред. В.А. Полякова, Л.В. Римаревой. М.: ВНИИПБТ, 2012. 432 с.

6. Римарева Л.В., Сербя Е.М., Соколова Е.Н., Борщева Ю.А., Игнатова Н.И. Ферментные препараты и биокаталитические процессы в пищевой промышленности // Вопр. питания. 2017. Т. 86. № 5. С. 62–74.

7. Шлейкин А.Г. Основы биоконверсии: Учеб.-метод. пособие. – СПб.: Университет ИТМО, 2015. 57 с.