

ВПЛИВ ПАРАМЕТРІВ КУЛЬТИВУВАННЯ НА ЕЛАСТАЗНУ АКТИВНІСТЬ ПРЕДСТАВНИКІВ РОДУ *BACILLUS*

Гудзенко О.В., канд. біол. наук, старший дослідник

e-mail: alena.gudzenko81@gmail.com

Інститут мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного НАН України

Анотація. Встановлено, що максимальна еластазна активність *Bacillus* sp. L9, L1, L2 досягається на другий день культивування досліджених продуцентів за температури 28°C і швидкості обертання качалки 230 об/хв.

Ключові слова: *Bacillus* sp., еластазна активність, параметри культивування.

Протеази мають широкий спектр застосування в промислових процесах і є лідером світових продажів ферментів. Особливе місце серед них займають ензими, які здатні розщеплювати такий важкорозчинний білок як еластин. Еластолітичні ензими використовують у м'ясопереробній промисловості, зокрема у процесах дозрівання м'яса; в рибній промисловості використання таких ензимів прискорює процеси засолювання та дозрівання оселедця, сприяє більш рівномірному розділенню солі по всій тушці. Традиційно за допомогою протеаз отримують протеїнові гідролізати, які використовують як поживні добавки [1, 2].

Мікробним протеазам віддається перевага над протеазами тварин і рослин через їх фундаментальні особливості та легкість виробництва. Бактеріальні лужні пептидази, особливо з видів *Bacillus*, займають лідируючі позиції на світовому ринку ферментів [3]. Раніше еластолітична активність була виявлена в деяких мікроорганізмів і представлена металопротеазами, які можуть відігравати важливу роль у сприянні інвазивності бактерій та встановленні інфекції.

Метою даної роботи було вивчення впливу параметрів культивування на еластазну активність представників роду *Bacillus*. Об'єктами дослідження були штами *Bacillus* sp. L1, L2, L9, виділені із сухої трави прибережної зони Кінбурнської коси (Миколаївська обл.). Культури вирощували в умовах глибокого культивування за температури 28°C, зі швидкістю перемішування живильного середовища 230 об/хв протягом 2 діб. Використовували методи визначення еластолітичної активності в супернатанті культуральної рідини.

Оскільки біосинтез ферментів залежить від умов культивування продуцента, досліджували деякі їх параметри, зокрема температуру, рівень аерації живильного середовища та швидкість обертання качалки.

При вивченні впливу температури культивування було показано, що максимальний синтез еластазної активності штамами *Bacillus* sp. L9, L2 і L1 спостерігаються при 28°C на другий день культивування всіх досліджуваних штамів. При підвищенні температури культивування до 42°C спостерігається

зниження синтезу активності еластази досліджуваними культурами. Так, у перший день культивування при 28 °С активність ферменту в супернатанті культуральних рідин *Bacillus* sp. L1 і L2 було в 2 рази, а у *Bacillus* sp. L9 в 1,4 рази вище, ніж при культивуванні при 42 °С. На другу добу культивування відзначено подібну динаміку. Активність еластази в супернатанті культуральної рідини *Bacillus* sp. L1 був удвічі вищим, а у *Bacillus* sp. L2 і L9 в 1,33 і 1,06 рази вищі за нижчих температур культури. На третю добу культивування зберігалася та сама картина: активність еластази в супернатанті культуральної рідини *Bacillus* sp. L1 в 2,25 рази, а у *Bacillus* sp. L2 і L9 в 1,33 і 1,19 рази вищі при вирощуванні при 28°C, ніж при 42°C.

На біосинтез еластази досліджуваними культурами *Bacillus* sp. значну роль відіграє рівень аерації живильного середовища. Так, найвища активність еластази становить 35,80, 33,80 і 28,00 од/мл відповідно для *Bacillus* sp. L9, L2 і L1 з'явилися, коли всі три штами вирощували в 100 мл культурального середовища.

Показано, що для максимального синтезу еластази також необхідна ефективна аерація: при вищих швидкостях обертання качалки активність була значно вищою. Так, при швидкості обертання 230 об/хв активність була в 3 рази вищою, ніж при 201 об/хв для штаму *Bacillus* sp. L9, 1,86 рази для штаму L1 і 1,6 рази для штаму L2.

Таким чином, показано, що *Bacillus* sp. L9, L1, L2 характеризувалися високим рівнем еластазної активності (35,80 28,0 та 33,80 од/мл відповідно). Максимальний синтез еластази відбувається на другий день культивування досліджених продуцентів за температури 28°C і швидкості обертання качалки 230 об/хв.

Список використаних джерел:

1. Contesini F. J., Melo R. R., Sato H. H. An overview of *Bacillus* proteases: from production to application. *Critical reviews in biotechnology*/ 2018. Vol. 38(3)/ Pp. 321–334. DOI: <https://doi.org/10.1080/07388551.2017.1354354>.
2. Мацелюх О. В., Нідялкова Н. А., Варбанець Л. Д. Еластолітичні ензими мікроорганізмів. *Біотехнологія*, 2010. Вип. 3(4). С.20-28.
3. A novel strain of *Stenotrophomonas acidaminiphila* produces thermostable alkaline peptidase on agro-industrial wastes: process optimization, kinetic modeling and scale-up/ Asitok A. et al. *Archives of microbiology*. 2022. Vol.204, Is.7 P. 400. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00203-022-03010-9>.

Abstract. It was shown that *Bacillus* sp. L9, L1, L2 characterized the higher levels of elastase activity (35.80 28,0 and 33.80 U/ml, respectively). The maximum synthesis of elastase occurs on the second day of cultivation of the producer at 28°C, and rotation of the shaker at 230 rpm.

Keywords: *Bacillus* sp., elastase activity, cultivation parameters.