



УДК 663.15

## ФЕРМЕНТАТИВНА АКТИВНІСТЬ МІКРООРГАНІЗМІВ

Студ. Г.Л. Салазкіна, гр. ББТ-16<sup>1</sup>

Науковий керівник Т.В. Булигіна<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Київський національний університет технологій та дизайну

<sup>2</sup>Інститут мікробіології і вірусології імені Д. К. Заболотного НАН України

**Мета і завдання:** Метою дослідження було вивчення ферментативної активності бактерій, тобто їх здатності синтезувати протеолітичні ферменти, а також визначення перспективності використання досліджуваних мікроорганізмів у промисловості для розробки на їх основі ферментних препаратів.

Згідно поставленої мети були сформульовані наступні завдання: визначити загальну протеолітичну активність досліджуваних штамів; провести скринінг серед досліджуваних штамів; визначити специфічну (фібринолітичну, колагеназну та еластазну) активність відібраних штамів мікроорганізмів.

**Об'єкт та предмет дослідження:** Об'єктом дослідження є отримання ферментів за допомогою мікроорганізмів, в нашому випадку – бактерій. Задля цього було проведено скринінг серед чотирьох різних бактеріальних культур на ферментативну активність. Предмет дослідження – ензимна активність бактерій та перспективність використання відібраних штамів у промисловості.

**Методи та засоби дослідження:** Існує безліч методів визначення ферментативної активності: флуоресцентні, манометричні, поляриметричні, електродні, віскозиметричні, спектрофотометричні (використовуються найбільш широко). Саме метод спектрофотометрії було використано для визначення ензимної активності в даному дослідженні. Протеолітичну активність досліджуваних мікроорганізмів визначали модифікованим методом Ансона, фібринолітичну – методом Masada, використовуючи в якості субстрата фібрин, який був отриманий з плазми крові людини на станції переливання крові.

Еластазну активність визначали колориметрично за інтенсивністю забарвлення розчину при ензиматичному гідролізі еластину, забарвленого конго червоним.

Колагеназну активність оцінювали за вмістом вільних амінокислот у реакційній суміші з нінгідринном.

**Наукова новизна та практичне значення отриманих результатів:** Одним з найпоширеніших методів отримання ензимів на даний час є використання ферментативної активності мікроорганізмів. Такий підхід є найновішим та найефективнішим порівняно з іншими.

Останнім часом вчені все більше звертають увагу на протеолітичні ензими, які відносяться до класу пептидаз. Важливою їх особливістю є висока каталітична активність, селективний характер дії по відношенню до субстратів, і здатність прискорювати певні хімічні реакції без утворення побічних продуктів.

Оскільки мікроорганізми – бактерії, гриби та віруси – мають здатність синтезувати ензими різної субстратної специфічності і всіх відомих класів, вони займають виключне місце як джерело їх отримання. Ферментний склад мікроорганізмів є постійним, а різні види мікробів чітко розрізняються по набору ферментів. Тому вивчення ферментативного складу має важливе значення для ідентифікації різних мікроорганізмів.

**Результати дослідження:** Проведено скринінг на протеолітичну активність ряду штамів бактерій (табл. 1). Показано, що серед 4 досліджених штамів найбільш активними виявились 1 та 3 штам.

**Сучасні матеріали і технології виробництва виробів  
широкого вжитку та спеціального призначення**

*Біотехнологія*

Таблиця 1 – Протеолітична активність досліджуваних штамів бактерій

Номер штаму	Оптична густина	
	Повторюваність 1	Повторюваність 2
1	0,84	0,45
2	0,025	-
3	1,5	0,93
4	0,14	0,6

Скринінг на специфічну активність показав, що фібринолітична та еластолітична активність досліджуваних штамів є невелика. У всіх досліджуваних штамів була визначена низька фібринолітична активність, що не дозволяє використовувати їх для добування фібринолітичних ензимів. Для підвищення даної активності необхідно оптимізувати умови культивування або застосувати методи генетичної модифікації. При цьому досліджувані штами проявили досить високу колагеназну активність, що свідчить про перспективність їх промислового використання (таблиця 2).

Таблиця 2 – Специфічна активність досліджуваних штамів бактерій

Активність	Номер штаму	Оптична густина	
		Повторюваність 1	Повторюваність 2
Фібринолітична	1	0,31	0,35
	3	0,54	0,27
Колагеназна	1	1,2	
	3	2,0	
Еластолітична	1	0,01	
	3	0,05	

**Висновок:** на основі отриманих результатів можна зробити висновок, що досліджувані штами бактерій під номером 1 та 3 колагеназною активністю 1,2–2,0, що є досить високим показником, можуть бути запропоновані для використання їх у промисловості.

У випадку з фібринолітичною та еластолітичною активністю вони майже не проявили жодної ферментативної активності. В перспективі можна було б застосувати до них певні генетичні модифікації та оптимізацію умов культивування для збільшення активності. Але на даний момент існує безліч штамів, які є більш відповідними для виділення з них фібринолітичних та еластолітичних ензимів. Таким чином, найбільш рентабельно було б використати ці штами в біотехнології саме для добування колагеназ.

**Ключові слова:** біохімія мікроорганізмів, ферменти, протеолітична, колагеназна, фібринолітична та еластолітична активності.

#### ЛІТЕРАТУРА

1. Molecular and biotechnological aspects of microbial proteases. Rao M. B., Tanskale A. M., Ghatge M. S., Deshpande V. V. 1998. С. 597–635.
2. Enzymatic characterization of *Vibrio alginolyticus* strains. Venice Lagoon (Italy) and Guanabara Bay (Brazil). 2008. С. 199–202.
3. Enhanced production of elastase by *Bacillus*. Chen O., Ruan H., Zhang H. 2007. С. 845–852.
4. Cellular function of elastase in *Pseudomonas aeruginosa*. Kamath S., Kapratral V., Chakrabarty A. M. 1998. С. 933
5. Пептидазы микроорганизмов и методы их исследования. Варбанец Л. Д., Мацелюх Е. В., 2014. С. 133, 161 – 167, 216 – 229.