

Выполнение данной работы частично финансировалось грантами МНФ (Сороша) RY 1000 и Ассоциации ИНТАС ЕС 93-3512.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Нахатаян П.А., Мотина Л.И. Биотехнология, 4, 1, 4-21, 1988
2. Энтеробактерии. Под ред. В.И. Похровского. М. 1985.
3. Bergmeyer H.U., Ber. I.E., Schmidt F., Stöbil H. Methods of enzymatic analysis. N.Y. AP 3 1195-1201, 1974
4. Buonocore V., Sgambati O., Rosa M., Esposito E., Cambacorta A. J. Appl. Biochem., 2, №0-394 1980
5. Dubois M., Gills R., Hamilton J.K., Rebers P.A., Smith F. Anal. Chem., 28, 350-354, 1959
6. Griffiths M.W., Muir D.D. J. Sci. Food Agric., 29, 753-757, 1978
7. Honda Y., Hasuba H., Ahiko K., Takahashi H. Nippon Shokuhin Kogyo Gakkaishi, 38, 384-390, 1991
8. Kobayashi T., Hirose Y., Ohnaya K., Saito S., Uchino F. J. Ferment. Technol., 55, 309-312, 1976
9. Kohkay D.E., Gheryan M. Enzyme Microb. Technol., 2, 64-68, 1981.
10. Macne B.J. Ann. Environ. Microbiol., 44, 1035-1040, 1982
11. Mehta N.J. Biol. Chem. 153, 376-380, 1944
12. Oks E.S., Harper W.J. J. Food Sci., 49, 28-102, 1974
13. Sanjari A., Sonawar H.M., Datta S.M. J. Dairy Sci., 65, 866-870, 1982
14. Somogyi M.J. Biol. Chem. 179, 19-23, 1952
15. Toba T. J. of Dairy and Food Sci., 24, 155-157, 1985.
16. Ulrich J.T., McFeters G.A., Temple K.L. J. Bacteriol., 170, 691-694, 1972

Поступила 22.IX.1994

Биолог. журн. Армения, 1, (48), 1995

УДК 576.251.5:577.15.01

## АСПАРТАЗНАЯ АКТИВНОСТЬ ТЕРМОФИЛЬНЫХ БАЦИЛЛ И АКТИНОМИЦЕТОВ

С.Н. БАГДАСАРЯН

Институт микробиологии НАН Армении, 378510, г.Абовян

Приведены данные о распространении аспартазы среды 10 видов термофильных бацилл и 5 видов термоактиномицетов. Выявлены новые активные продуценты аспартазы, которые могут быть использованы при ферментативно-микробиологическом получении L-аспарагиновой кислоты из фумарата аммония.

Սերված են ասպարտազայի ստրամենոն ալյաբները ջերմասեր բազիլներ 10 և ակտինոմիցետների 5 տեսակների մոտ: Հայտնաբերվել են ակտիվ ասպարտազայի նոր արտադրիչներ, որոնք կարող են օգտագործվել ասպարտիկ ֆոսֆորատից L-ասպարտիկաթթվի ֆերմենտատիվ-մանրէաբանական ստացման նպատակով:

The data on distribution of aspartase in 10 species thermophilic bacilli and 5 species thermoactinomycetes are given.

The new active producers of aspartase which may be used for enzymatic microbiological production of L-aspartic acid from ammonium fumarate have been revealed.

В настоящее время в ряде стран культуры микробов-продуцентов аспартазы используются для получения L-аспарагиновой кислоты из фумаровой [5-8].

В Институте микробиологии НАН Армении ранее проведены исследования по изысканию новых продуцентов аспартазы (аспа) [1-4]. Данное сообщение посвящено обобщению результатов исследования по выявлению аспартазы у экстремофильных форм аэробных спорообразующих бактерий и актиномицетов.

**Материал и методика.** Объектами исследований явились оригинальные культуры термофильных бацилл, выделенные нами из почв и разнообразных природных субстратов, а также 20 штаммов термофильных актиномицетов, выделенных из различных почв, экскрементов тропических животных, грунтовых вод и ила термальных источников.

Аспартазная активность (аспартат-аммиак-лиаза, КФ 4. 3. 1. 1.) определялась качественно, обнаружением положительной реакции L-аспарагиновой кислоты с нингидрином после одночасовой инкубации в реакционной смеси (1 mM раствор фумарата аммония, pH 8,5; 1 мк моль Mg<sup>2+</sup>). При количественном определении 10-20 мг биомассы суспендировали в 1 мл реакционной смеси и инкубировали при 55° в течение 60 мин. Далее суспензию центрифугировали при 4 000-5 000 об/мин и методом тонкослойной хроматографии определяли количество L-аспарагиновой кислоты. Высушенные пластинки проявляли нингидрином, пятна элюировали 2 мл 60 %-ного раствора этанола и 1 мл 0.1 %-ного водного раствора CdCl<sub>2</sub>. Экстинкцию определяли при 500 нм.

**Результаты и обсуждение.** Большинство изученных видов термофильных бацилл характеризуется наличием аспартазы (табл. 1).

Таблица 1. Сравнительная характеристика аспартазной активности некоторых видов термофильных бацилл

Виды и группы термофильных бацилл	Число испытанных штаммов	Число штаммов с аспартазной активностью	
		слабой	сильной
<i>Bacillus sp.</i>	15	1	5
<i>B. circulans</i>	7	1	1
<i>B. licheniformis</i>	25	7	5
<i>B. megaterium</i>	1	0	0
<i>B. subtilis</i>	2	0	0
<i>B. cereus</i>	7	1	2
<i>B. firmus</i>	3	1	0
<i>B. coagulans</i>	1	1	0
<i>B. macerans</i>	1	0	0
<i>B. epiphilus</i>	2	0	0

Наибольшее распространение аспартазы отмечается у термофильных видов *B.licheniformis*, *B.cereus* и *Bacillus sp*. Единичные продуценты аспартазы обнаружены среди культур *B.circulans*, *B.firmus* и *B.coagulans*. Среди изученных термофильных бацилл, представленных видами *B.mogaterium*, *B.subtilis*, *B.massarans* и *B.erythritus*, не было отмечено наличия аспартазной активности.

Отсутствием аспартазы характеризуются представители *Thermomonospora*, а среди *Thermoactinomyces* обнаружен один продуцент аспартазы *Thermoactinomyces dichloronicus*, штамм с активностью 1000 мкмоль/час на г сырой биомассы.

Таблица 2. Аспартазная активность термофильных бацилл

Виды бацилл	Рабочие омера штаммов	Активность, мкмоль/час/г сырой биомассы
<i>Bacillus sp.</i>	283	9600
	286	9000
	331	11400
	347	12600
	218	3000
	305	7800
<i>B.circulans</i>	370	11400
	200	3000
<i>B.licheniformis</i>	083	10800
	062	10200
	291	6000
	322	11400
	325	9000
	327	6000
	204	3600
	207	2400
	220	2400
	231	8400
	181	3000
185	3000	
<i>B.cereus</i>	152	12600
	162	9000
	165	6000
<i>B.firmus</i>	158	6000
<i>B.coagulans</i>	404	2400

Факт обнаружения продуцентов целых ферментов среди экстремофильных, особенно термофильных, форм микроорганизмов как наиболее перспективных для промышленной реализации имеет

большой практический интерес. В этой связи нами проведена специальная серия исследований по количественной характеристике аспартазной активности у наиболее перспективных термофильных бацилл (табл.2). Максимальная ферментативная активность - 12 600 мкмоль/час/г сырой биомассы-отмечена у штаммов *Bacillus* sp. 347 и *B.cereus* 152. Сравнительно высокая активность аспартазы (в пределах 6 000-12 000) обнаружена у 17 термофильных бацилл, представленных видами *B.licheniformis*, *B.circulans*, *B.cereus* и *Bacillus* sp. Среди культур *B.licheniformis* и *Bacillus* sp., продуцирующих аспартазу большинство штаммов обладали высокой аспартазной активностью.

В результате проведенных исследований установлено, что термофильные бациллы, представленные многими видами микроорганизмов, заслуживают особого внимания как источник получения и применения разнообразных ферментов, в первую очередь аспартазы, а некоторые из них в качестве активных продуцентов могут быть рекомендованы для производства L - аспарагиновой кислоты из фумаровой методом биотрансформации.

Выполнение данной работы частично финансировалось грантами МНФ (Сороша) - RY 1000 и Ассоциации ИНТАС ЕС - 93-3512.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Абелян В.А., Антонян А.П., Багдасарян С.Н., Удчадурян А.А., Ладрикан Э.Г. Авт.свид 1441785 1 8 1988.
2. Абелян В.А., Получение и применение иммобилизованных ферментов и клеток микроорганизмов, Ереван, 1989.
3. Авакян Э.Г., Багдасарян С.Н. Биолог журн. Армении, 31, 995-997, 1978.
4. Багдасарян С.Н., Абелян В.А. Авт.свид 1515694 15 6 1983.
5. Chibata J. Immobilized enzymes, Tokyo, Koanasha, N.-Y., John Wiley & Sons, 1973.
6. Kakimoto T, Kato Y, Shibatani T et al. J. Biol. Chem., 244, 353-358, 1969.
7. Takamatsu S, Yamamoto K, Tosa T. et al. J. Ferment Technol., 59, 489-493, 1981.
8. Tosa T., Salo T., Mori T. et al. Appl. Microbiol., 27, 886-889, 1974.

Получила 06 IX 1994