

ОПТИМИЗАЦИЯ СОСТАВА СРЕДЫ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ДЛЯ
СИНТЕЗА ИНУЛИНАЗЫ *ASPERGILLUS SP.*

С. Л. ПАПИКЯН, С. Л. МАРКОСЯН, Л. С. МАРКОСЯН

Институт микробиологии НАН Армении, 378510, г. Абовян

Инулин-инулиназа-аспергилл.

Одним из перспективных ферментов для получения сахаристых продуктов из инулина и других полифруктанов является инулиназа (2,7 - β -Д-фруктан-фруктаногидролаза КФ 3.2.1.7).

Проводились разносторонние исследования инулиназ микроорганизмов [9]. Изучались некоторые аспекты синтеза фермента в зависимости от состава среды культивирования. Показано, что различные источники углерода, азота и фосфора по-разному действуют на процесс биосинтеза инулиназы. В большинстве случаев эффективными компонентами питательной среды для синтеза инулиназы являются инулин, сахароза, раффиноза, пептон, кукурузный экстракт, $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ и Na_2HPO_4 [1-6,8]. До настоящего времени нет данных по оптимизации состава среды культивирования с целью получения возможно максимального выхода фермента.

В настоящем сообщении приводятся результаты исследований по оптимизации среды культивирования для ранее выделенного нами продуцента инулиназы *Aspergillus sp.*

Материал и методика. Штамм *Aspergillus sp. (M-1)* выращивали на питательных средах, содержащих пептон, инулин и Na_2HPO_4 в различных концентрациях и сочетаниях. Культивирование проводили в 250 мл колбах Эрленмейера при 28° и постоянном перемешивании (220 об/мин) в течение 4-5 суток.

Активность внеклеточной инулиназы определяли в инкубационной среде, содержащей 2 мл 0,3% раствора инулина в 0,1 М ацетатном буфере (рН 5,5) и 1 мл культуральной жидкости (кж), а в случае внутриклеточного фермента - 3 мл раствора инулина и 20 мг биомассы. Количество редуцирующих веществ, образовавшихся при ферментативном гидролизе инулина, определяли методом Сомоджи-Нельсона [7].

Инвертазную активность определяли в аналогичной смеси, используя в качестве субстрата сахарозу (0,3%).

Результаты и обсуждение. Выделенный нами штамм *Aspergillus sp. M-1* при культивировании на среде, содержащей пептон,

инулин, Na_2HPO_4 нормально растет и синтезирует как вне-, так и внутриклеточную инулиназу. Показано, что максимальная активность фермента определяется при 45-50° и pH 5,5. Изучаемая инулиназа обладает также инвертазной активностью. Выявлено, что наивысшая активность проявляется у 4-5-дневных культур.

На основе полученных результатов проведены исследования по оптимизации условий культивирования с целью достижения максимального выхода инулиназы. Исследования проводились с помощью математического метода планирования экспериментов и обработки данных на ЭВМ. Задачу решали с помощью математического аппарата симплекс-решетчатого планирования эксперимента на диаграммах состав- свойство. Была составлена матрица экспериментов. Культура выращивалась в 15 средах, отличающихся соотношением отдельных компонентов (табл. 1). Результаты исследований активности вне- и внутриклеточной инулиназы во всех 15 вариантах питательной среды приведены в табл.2.

Таблица 1. Матрица состава сред культивирования *Aspergillus sp.*

N	X ₁	X ₂	X ₃	Пептон, г/л	Инулин, г/л	Na_2HPO_4 , г/л
1	1	0	0	10,0	5,0	1,0
2	0	1	0	5,0	10,0	1,0
3	0	0	1	5,0	5,0	3,0
4	0	1/4	3/4	5,0	6,25	2,5
5	0	1/2	1/2	5,0	7,5	2,0
6	0	3/4	1/4	5,0	8,75	1,5
7	1/4	0	3/4	6,25	5,0	2,5
8	1/4	1/4	2/4	6,25	6,25	2,0
9	1/4	2/4	1/4	6,25	7,5	1,5
10	1/4	3/4	0	6,25	8,75	1,0
11	2/4	0	2/4	7,5	5,0	2,0
12	2/4	1/4	1/4	7,5	6,25	1,5
13	2/4	2/4	0	7,5	7,5	1,0
14	3/4	0	1/4	8,75	5,0	1,5
15	3/4	1/4	0	8,75	6,25	1,0

X₁, X₂, X₃ - относительные концентрации пептона, инулина и Na_2HPO_4 соответственно.

Соответствующая математическая обработка полученных

данных и построенных графиков позволила выявить оптимальное сочетание основных компонентов питательной среды для максимального синтеза инулиназы *Aspergillus sp. M-1*. Обнаружено, что культуральные среды, содержащие (г/л): пептон-5,6-6,0; инулин-5,0; Na_2HPO_4 -2,6-2,8 и пептон - 7,0-8,0; инулин - 5,5-6,5; Na_2HPO_4 - 1,5 -1,8 являются наиболее эффективными для синтеза внутри- и внеклеточных инулиназ.

Таблица 2. Активность инулиназы и инвертазы *Aspergillus sp. шт. M-1* при культивировании в различных средах¹.

Среды №	Инвертаза в юк, мкг фр. /мл/ /60 мин	Инулиназа в юк, мкг фр. /мл/ /60 мин	Инвертаза в биомассе, мг фр. /г/ /60 мин	Инулиназа в биомассе, мг фр. /г/ /60 мин
1	2572	3367	313	59
2	2687	3830	240	60
3	3409	2575	207	51
4	8616	2576	308	224
5	7721	4334	321	227
6	6641	3126	311	114
7	6017	4844	311	244
8	5670	2789	332	216
9	5947	4143	291	238
10	1805	2034	376	368
11	3237	2200	335	442
12	4026	1743	376	457
13	1350	3736	370	181
14	4183	2694	263	113
15	4693	4316	226	351

¹. Составы сред приведены в табл. 1.

ЛИТЕРАТУРА

1. Grootwassink J. W., Hewitt J. M. J. Gen. Microbiol., 124, 31-42, 1983.
2. Kim K. C. J. Korean Agric. Chem. Soc., 18, 42-51, 1975.
3. Kim K.C. J. Korean Agric. Chem. Soc., 18, 177-182, 1975.
4. Nakamura T., Haushi S. Nakatsu S. Nippon Nogei Kagaku Kaishi, 52, 3, 105-110, 1978.
5. Negoro H., Kito E. J. Ferment. Technol. 51, 103-110, 1973.
6. Nakayama M. J. Agric. Biol. Chem., 47, 12, 2761-2769, 1983.
7. Somogyi M., J. Biol. Chem., 195, 19, 1952.
8. Uchijama T., Niwa Sh., Tanaka K. Biochem., Biophys. Acta, 315, 412-420, 1973.
9. Vandama E. I., Deryeke D. G. Advances in Appl. Microbiol., 29, 139-175, 1983.

Поступила 9. IX 1994 г.