

УДК 57.069.4:582.263

А.В. Гончарова*, Т.А. Карпенюк, Я.С. Цуркан, Р.У. Бейсембаева, С. Жазыкбаева
 Казахский национальный университет им. аль-Фараби, г. Алматы, Казахстан.
 *e-mail: goncharova_alla_@mail.ru

Влияние температуры на выход биомассы, синтез общих липидов и жирно-кислотный состав некоторых бактерий

В работе исследовано влияние температуры на выход биомассы, содержание суммарных липидов и жирно-кислотный состав бактерий *Pseudomonas peli*, *Flavobacterium saliperosum*, *Bacillus pumilus*. Показано, что снижение температуры культивирования бактерий приводит к уменьшению выхода общих липидов, однако повышает содержание ненасыщенных ЖК у изученных изолятов.

Ключевые слова: полиненасыщенные жирные кислоты, микроорганизмы, условия культивирования, общие липиды, бактерии.

А.В.Гончарова, Т.А.Карпенюк, Я.С.Цуркан, Р.У. Бейсембаева, С.Жазыкбаева
Биомассаның шығымына температураның әсері, кейбір бактерияларда жалпы липидтердің синтезі және май қышқылдардың құрамы

Pseudomonas peli, *Flavobacterium saliperosum*, *Bacillus pumilus* бактерияларды себінді жағдайда өсіргенде температураның әсері биомассаның шығымына, липидтердің жалпы мөлшері мен май қышқылдардың құрамына зерттелінді. Көрсетілді, бактериялардың себінді ортаның температурасы төмендегенде жалпы липидтердің шығымы кеміді, бірақ изоляттардың барлығында липидтердің құрамында қанықпаған май қышқылдардың мөлшері жоғарлайды.

Түйін сөздер: микроорганизмдер, продуценттер, поликанықпаған май қышқылдары, қаныққан май қышқылдары, өсіру жағдайлары.

A.V.Goncharova, T.A. Karpenyuk, Y.S.Tsurkan, R.U.Bejssembaeva, S.Zhazikbaeva

Effect of temperature on the biomass yield, the synthesis of lipids and fatty acid composition of some bacteria

The influence of temperature on the cultivation of biomass yield, total lipid content and fatty acid composition of bacteria *Pseudomonas peli*, *Flavobacterium saliperosum*, *Bacillus pumilus* was studied. It was shown that the temperature reduction during cultivation of the bacteria leads to a decrease in the yield of lipids, but increases the concentration of unsaturated FA at the studied isolates.

Keywords: polyunsaturated fatty acids, microorganisms, culture conditions, total lipids, bacteria.

В течение последних двух десятилетий полиненасыщенные жирные кислоты (ПНЖК) являются объектом пристального внимания ученых. Они представляют собой уникальный класс органических соединений, играющих важную роль в биологических системах.

Эти кислоты в ходе метаболических превращений оказывают влияние на сердечно-сосудистую, нервную, репродуктивную и иммунную системы организма, а их производные используют для производства различных соединений, применяемых в сельском хозяйстве, ветеринарии, медицине, косметологии и пищевой промышленности.

Микроорганизмы являются весьма перспективными продуцентами липидов и их компонентов (таких как ПНЖК) в связи с их

высокой скоростью роста на простых средах и возможностью манипулировать их метаболизмом [1].

Совершенствование известных и разработка новых способов культивирования микроорганизмов является основой для получения продуктов их биосинтеза и использования специфических микробных процессов в отдельных областях биотехнологии.

Для развития эффективного микробиологического производства ПНЖК, необходимо уделять внимание условиям культивирования микроорганизмов, варьирование которых приводит к улучшению ростовых характеристик микроорганизмов, а также стимуляции биосинтетических процессов [2].

Оптимизация получения ПНЖК из микроорганизмов в промышленных масштабах тесно связана с условиями культивирования, которые влияют на содержание общих липидов и жирных кислот [3].

Материалы и методы

Объектом исследования являлись бактерии, выделенные из водоемов и почв Казахстана:

Pseudomonas peli, *Flavobacterium saliperosum*, *Bacillus pumilus*.

Микроорганизмы культивировали на универсальных питательных средах: мясопептонный бульон (МПБ), мясопептонный агар (МПА) [4, 5]. Динамику роста культур бактерий оценивали нефелометрически (фотоколориметрирование при длине волны 590 нм). Влияние температуры на выход биомассы и синтез общих липидов исследовали культивируя суспензию при температурах 16°C и 24°C.

Экстракцию липидов проводили, комбинируя метод Фолча и метод Кейтс [6, 7]. Общее количество липидов определяли весовым методом [8]. Получение метиловых эфиров жирных кислот (МЭЖК) осуществляли согласно методике, описанной в работе [9]. Жирно-кислотный состав фракции суммарных липидов исследовали методом газовой хроматографии. Хроматографическое разделение эфиров жирных кислот проводили на газовом хроматографе Clarus 500 (PerkinElmer 8500, США). Программа обработки хроматограмм - Perkin-Elmer Total Chrom Navigator.

Экспериментальный материал был обработан статистически.

Результаты и их обсуждение

Оптимизация накопления биомассы бактериальных клеток в культуре, получения суммарных липидов и ПНЖК из микроорганизмов тесно связана с условиями культивирования, которые влияют как на содержание общих липидов, так и на жирно-кислотный состав [1].

Известно, что необходимыми условиями интенсивного накопления липидов в клетках так называемых “липидных” микроорганизмов (образующих более 20% липидов от сухой биомассы) является разобщение конструктивного и энергетического метаболизма в условиях, когда рост клеток лимитирован питательными компонентами или ингибирован неблагоприятными значениями рН и температуры при избытке источника углерода и энергии в среде [2, 10].

Из водоемов и почв Казахстана выделены 3 культуры бактерий в качестве потенциальных продуцентов практически ценных ПНЖК. Бактериальные культуры были идентифицированы как *Pseudomonas peli*, *Bacillus pumilus*, *Flavobacterium saliperosum* [11].

При исследовании влияния температуры на рост отобранных бактериальных культур, было установлено, что при снижении температуры на 8°C изменения биомассы незначительны, но имеют тенденцию к понижению для всех трех культур бактерий (рис. 1). В большей степени снижение биомассы наблюдается для культуры *Fl.saliperosum*

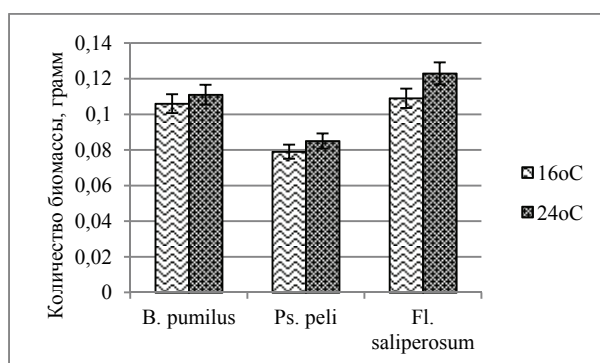


Рисунок 1 – Влияние температуры культивирования на выход биомассы бактериальных культур

Варьирование температурного режима культивирования бактерий влияет на накопле-

ние суммарных липидов (Рис 2). Для всех трех культур наблюдается снижение уровня сум-

марных липидов с понижением температуры культивирования на 8°C. Для культуры *Fl. saliperosum* показано, что содержание липидов с понижением температуры культивирования до 16 °С уменьшается в 1,75 раза. У *Ps. peli* уровень суммарных липидов в условиях выращивания культуры при 16 °С снижался в 1,3 раза, а у культуры *B. pumilus* в 1,2 раза.

Адаптивные реакции микроорганизмов на действие температуры проявляются в

изменении уровня ненасыщенных жирных кислот в липидах мембран. Так, для бактерий *Pseudomonas fluorescens* показано увеличение количества ненасыщенных ЖК с понижением температуры выращивания [12]. Усиление синтеза ПНЖК при понижении температуры является одним из способов регуляции текучести липидного бислоя.

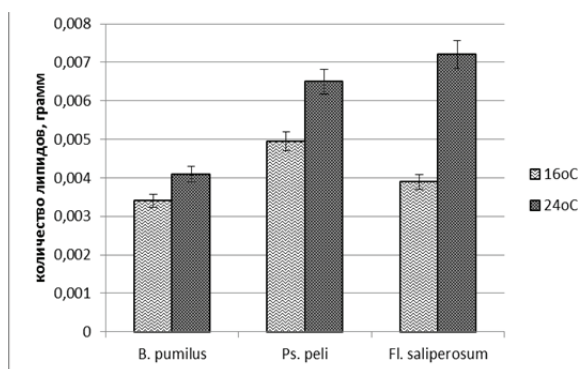


Рисунок 2 – Влияние температуры культивирования на выход суммарных липидов у бактерий

В таблице 1 представлены данные по влиянию температуры культивирования бактерий на изменение жирно-кислотного состава. При понижении температуры с 24°C до 16°C у всех трех культур наблюдалось повышение содержания ненасыщенных ЖК, за счет

снижения уровня насыщенных ЖК. Наиболее ярко эта тенденция была выражена для культуры *Fl. saliperosum*, у которой содержание ненасыщенных ЖК возросло (на 4,65%) с 76,51% при 24°C до 81,16% при 16°C.

Таблица 1 – Влияние температуры культивирования на содержание жирных кислот бактериальных культур

Культура	Жирные кислоты	Температура культивирования	
		24°C	16°C
<i>Fl. saliperosum</i>	насыщенные	18,71%	14,66%
	ненасыщенные	76,51%	81,16%
	моноеновые	59,31%	64,04%
	полиеновые	17,19%	17,12%
	не идентифицированные	4,78%	4,17%
<i>Ps. peli</i>	насыщенные	21,74%	19,73%
	ненасыщенные	77,03%	79,24%
	моноеновые	69,17%	71,09%
	полиеновые	7,86%	8,15%
	не идентифицированные	1,24%	1,02%
<i>B. pumilus</i>	насыщенные	14,40%	11,84%
	ненасыщенные	79,84%	81,74%
	моноеновые	67,53%	70,78%
	полиеновые	12,32%	12,96%
	не идентифицированные	5,76%	4,42%

Подобные изменения жирно-кислотного состава являются одним из способов регуляции текучести липидного бислоя и обычно осуществляются, в зависимости от микроорганизма, различными десатуразами [13].

Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о том, что варьирование

температурного режима при культивировании бактерий можно использовать для увеличения выхода как общих липидов, так и для изменения жирно-кислотного состава. Понижение температуры культивирования продуцентов является эффективным приемом усиления синтеза ненасыщенных жирных кислот у бактерий.

Литература

- 1 Ratledge C. Microbial oils and fats // *Biotechnology for the oils and fats industry*. – 1984. – V.76. – P. 119-127.
- 2 Работнова И.Л., Позмогова И.Н. Хемостатное культивирование и ингибирование роста микроорганизмов. - М.: Наука, 1979. – 207 с.
- 3 Ratledge C. Fatty acid biosynthesis in microorganisms being used for Single Cell Oil production // *Biochimie*. – 2004. – Vol. 8. – P. 807–815.
- 4 Егоров Н.С. Практикум по микробиологии. – М.: Изд-во МГУ, 1976. - С. 56 – 124.
- 5 Практикум по микробиологии / Под. ред. А.Н. Нетрусова. - М.: Academia. 2005. – С. 448- 597.
- 6 Кейтс М. Техника липидологии. - М.: Мир, 1975. – 234 с.
- 7 Folch J. A simple method for the isolation and purification of total lipids from animals tissues // *J. Biol. Chem.* – 1957. - № 226. – P. 497-509.
- 8 Garbus J., Deluca H.F., Loomans M.E., Strong F.M. 1963. Rapid incorporation of phosphate into mitochondrial lipids // *J.Biol.Chem.* – 1963. - Vol. 238. – P. 59-63.
- 9 Christie W.W. Lipid analysis. Isolation, separation, identification and structural analysis of lipids. Third edition. – Bridgewater: The Oily Press, 2003. – 339 p.
- 10 Дедюхина Э.Г., Ерошин В.К. Незаменимые химические элементы в регуляции метаболизма микроорганизмов // *Успехи микробиологии*. – 1992. – Т. 25. - С. 126-142.
- 11 Goncharova A.V., Karpenyuk T.A., Tsurkan Y.S., Beisembaeva R. U. Screening and Identification of Microorganisms – Potential Producers of Arachidonic Acid// *ICBBS 2013, XXXIV International Conference on Biotechnology and Biological Sciences (WASET, 2013; Zurich, Switzerland. – 2013. – Issue 79. – P. 1773-1777.*
- 12 Cullen J., Phittlips M. C. Shipley G. G. The Effects of Temperature on the Composition and Physical Properties of the Lipids of *Pseudomonas fluorescens* // *Biochem. J.* – 1971. - № 125. – P. 733-742.
- 13 Ho S.Y., Chen F. Lipid characterization of *Mortierella alpina* grown at different NaCl concentrations // *J. Agric. Food Chem.* - 2008. – Vol. 56. № 17. - P. 7903–7909.