

В.Н. Леонтьев, доцент; Е.А. Флюрик, инженер;
И.М. Бурак, ассистент; И.В. Свиридова, студентка

СКРИНИНГ ТИОЛОКИСЛЯЮЩИХ МИКРООРГАНИЗМОВ

The technique is developed and is carried out screening thioloxydasing microorganisms allocated of different sources.

Тиолы – меркаптаны, органические соединения, содержащие сульфгидрильную функциональную группу. Они имеют характерный резкий запах. Существует целый ряд направлений деятельности человека, где приходится бороться с запахом тиолов. Существуют химические и микробиологические методы дезодорации меркаптанов, в основе которых лежат реакции их окисления до дисульфидов и других органических соединений. В последние годы интенсивно развиваются микробиологические методы дезодорации [1, 2].

Целью настоящей работы явился скрининг тиолокисляющих штаммов микроорганизмов, который проводили среди культур, выделенных из образцов почвы участка одоризации газораспределительной станции «Пуховичи», водного затвора емкости хранения этилмеркаптана, а также коллекционных штаммов кафедры биотехнологии и биоэкологии БГТУ.

Выделение микроорганизмов проводили с применением селективных сред (2 синтетических и 2 полноценных), содержащих 0,2% β -меркаптоэтанола.

Было выделено 12 бактериальных и 4 грибных штамма.

Способности данных штаммов осуществлять окисление тиолов изучали с применением двух методов: газохроматографического и полярографического. Первый основан на определении этилмеркаптана и продуктов его окисления в газовой фазе, второй – на определении скорости потребления кислорода при окислении β -меркаптоэтанола в жидкой среде.

Анализ окисления этилмеркаптана ($0,016 \pm 0,002$ г), адсорбированного х/б тканью ($2,864 \pm 0,050$ г), начинали после опрыскивания ее 1 см^3 разведенной в 2 раза культуральной жидкостью (0,06 мг белка) в закрытом эксикаторе. Пробы газовой смеси отбирали каждые 5 мин. Полученные хроматограммы для одного из исследуемых штаммов даны на рис. 1.

Представленные хроматограммы свидетельствуют, что под действием ферментов культуральной жидкости этилмеркаптан за 20 мин практически полностью превратился в диэтилдисульфид. Расчет показал, что активность тиолоксидазы для этого штамма составила $0,9 \text{ мкмоль/мин} \cdot \text{мг}$ белка.

Однако такой метод является достаточно трудоемким и не весьма удобным для проведения скрининга, поэтому мы обратились к полярографическому методу определения скорости потребления кислорода, в ячейке с электродом Кларка, в ходе ферментативной реакции окисления тиолов. В этом методе использовали водорастворимый и менее летучий тиол – β -меркаптоэтанол [3]. Эффективность его окисления оценивали визуально, по степени изменения наклона кинетической кривой (рис. 2). Таким образом, полярографический метод позволяет быстро оценивать эффективность катализа окисления тиолов и может быть положен в основу скрининга тиолокисляющих микроорганизмов. Полученные с помощью этого метода результаты представлены в таблице.

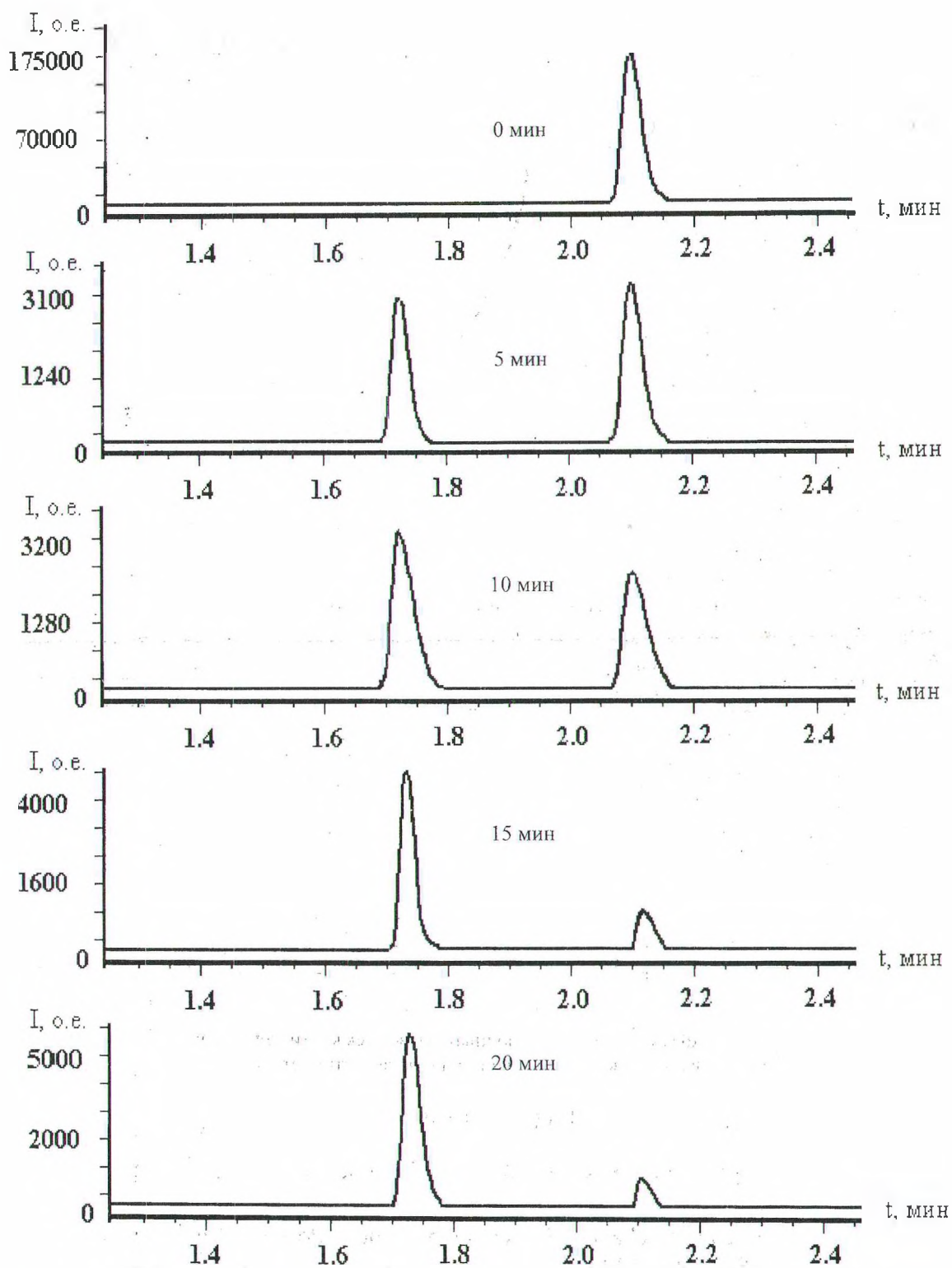


Рис. 1. Хроматограммы, отражающие динамику окисления этилмеркаптана

Приведенные в таблице результаты свидетельствуют об очень хорошей эффективности окисления тиолов тиолоксидазой бактериального штамма 2к после 5 сут культивирования.

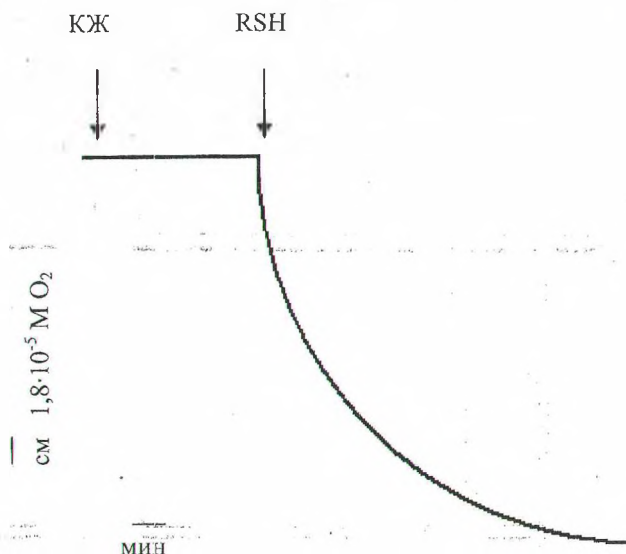


Рис. 2. Кинетическая кривая потребления кислорода при окислении β -меркаптоэтанола

Таблица

Эффективность окисления β -меркаптоэтанола

Номер штамма	Источник выделения	Принадлежность Б – бактериальный, Г – грибной штамм	Эффективность окисления тиолов					
			Время культивирования, сут					
			2	3	4	5	6	7
1	П	Б	+	+	-	++	+	-
2к	3	Б	-	-	++	+++	++	+
2	П	Б	нд	нд	нд	-	-	нд
8	П	Б	+	++	++	-	-	+
10	П	Б	+	+	-	нд	+	-
11	П	Б	нд	+	-	++	+	-
17	П	Б	нд	+	++	-	-	++
20	3	Г	-	-	-	-	-	-
22	3	Г	-	-	-	-	-	-
21	3	Б	-	-	-	-	-	-
23	3	Б	-	-	-	-	-	-

Примечание: П – ГРС «Пуховичи»; 3 – водный затвор емкости для хранения этилмеркаптана; +++ – очень хорошо; ++ – хорошо; + – удовлетворительно; нд – не детектируется.

ЛИТЕРАТУРА

1. U.S. Patent # 2,793,096. 1957. De-odorizing of gas streams by the use of microbial growths. Pomeroy, R.D.
2. <http://psc.tamu.edu>. Michael J. Usher. Odor Fade – Possible Causes and Remedies, CGA Gas Measurement School. – 1999.
3. <http://> Safety (MSDS) data for 2-mercaptoethanol.