

fenestrata Elenk., *Pandorina morum* (Muell.) Bory, *Oocystis borgei* Snow., *Ulothrix subtilissima* Rabenh.

Вычисление коэффициента общности альгофлоры в верхней, средней и нижней частях реки Ахангаран с использованием формулы Жаккара [2] дало следующие результаты: коэффициент общности флоры водорослей верхней и средней частей равен 0,41, верхней и нижней – 0,26, средней и нижней – 0,55. В целом коэффициент общности реки Ахангаран составил 0,145 (таблица 2).

Таблица 2 – Количество водорослей по сравниваемым течениям реки Ахангаран

Сравниваемые течения	Данные показателя			Учитываемая коэффициент(Kj) общности
	а	б	с	
I/II. верхне-средняя	116	151	78	0,41
I/III. верхне-нижняя	116	117	48	0,26
II/III. средне -нижняя	151	117	95	0,55

Установлено, что по всему течению реки Ахангаран распространены 41 видов, 1 вариация, 1 форма водорослей.

ЛИТЕРАТУРА

1. Шульц В.Л. Реки Средней Азии. – Л.: ГИМИЗ, 1965. – С. 595–606.
2. Шмидт В.М. Количественные показатели в сравнительной флористике // Ботан. журн. – Москва, 1974. Том 59. – № 7. – С.929–940.

УДК 662.756

М. Э. Саттаров, доц., канд. биол. наук;
Ш. Ж. Фазлиддинов, студ. (ТГТУ, г. Ташкент);
Ж. Ф. Зиявитдинов, ст. науч. сотр., канд. хим. наук
(ИБОХ АН РУз. г. Ташкент)

ПОИСК ПРОДУЦЕНТА СПЕЦИФИЧЕСКОЙ ЛИПАЗЫ

Исследование структуры липолитических ферментов, механизмов гидролиза триглицеридов *in vivo*, систем регуляции скоростей метаболических процессов, сложнейшей координации ферментативных превращений в клетке способствует глубокому познанию процессов жизнедеятельности на молекулярном уровне и обуславливает практическую необходимость создания новых гетерогенных биокатализаторов промышленного назначения.

Липазы – сериновые гидролазы, действующие на поверхности раздела фаз и способные катализировать как гидролиз триглицеридов, так и обратные реакции этерификации, трансэтерификации, алкоголиза и ацидолиза, которые используются в пищевой, фармацевтической, химической, текстильной и кожевенной промышленности, в производстве моющих средств, а также для аналитических целей в медицине. Свойство энантиоселективности липаз широко применяется в органическом синтезе биологически активных веществ и их синтетических аналогов. Однако широкое использование нативных препаратов липолитических ферментов сдерживается высокой ценой энзимов, сложностями в создании оптимальных условий гидролиза триглицеридов, низкой термостабильностью и невысокими скоростями реакций в физико-химических условиях, отличающихся от оптимальных. Преодолеть эти недостатки удастся посредством иммобилизации ферментов на различных природных и синтетических носителях.

Важным моментом в решении задачи получения микробных липаз является первоначальный отбор активного продуцента среди местных штаммов бактерий. Как известно, бактериальные штаммы *Pseudomonas aeruginosa*, *Chromobacterium violaceum*, *Bacillus Stearothermophilus* и штаммы грибов *Penicillium melinii*, *Mucor miehei*, *Aspegillus niger* и *Rhizopus microsporus* широко используются для получения высокоактивных липаз. Поэтому в наших исследованиях проводили отбор среди местных штаммов трех видов бактерий – *P.aeruginosa*, *C.violaceum* и *B.stearothermophilus* и 4 видов грибов – *P.melinii*, *M.miehei*, *A.niger* и *R.microsporus* на способность продуцировать активную липазу.

Культивирование 4-х дневного инокулиума микроорганизмов проводили на агаризованных средах Лурия–Бертани (LB), в среде с содержанием: 0,5 г/л NaCl, 0,5 г/л пептона, 0,2 г/л дрожжевого экстракта. Для подбора оптимальной среды для продуцирования липаз в питательную среду добавляли 0,5% хлопкового масла. Выращивание проводили при температуре 24–26°C, аэрации 0,5 л/мин, скорости вращения пропеллера 150–200 обор/мин. Динамику накопления липазы в культуральных жидкостях (КЖ) продуцентов наблюдали в течение 4 суток культивирования, отбирая пробы через каждые 12 часов. Ферментативную активность в КЖ определяли рН-стат методом, используя в качестве субстрата трибутирин; количество белка определяли методом Лоури. Полученные результаты представлены на рисунке.

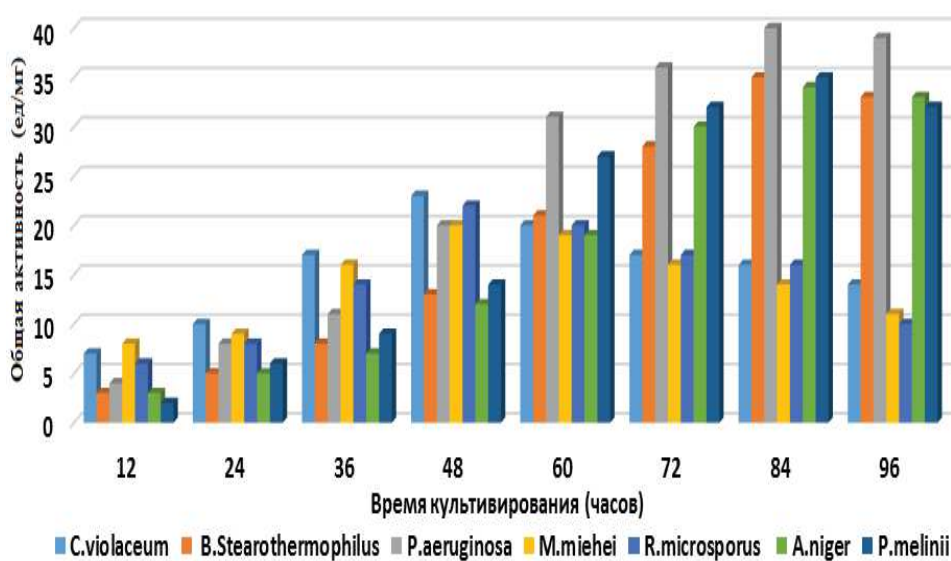


Рисунок 1 - Динамики накопления фермента

Изучение динамики накопления липазы в процессе роста продуцентов в оптимизированной питательной среде с 0,5% хлопковым маслом показали, что наибольшую способность к биосинтезу фермента обладал среди бактерии *P.aeruginosa*, а среди грибов *P.melinii*. При этом общая липазная активность в КЖ составляла 40 ед/мг и 35ед/мг соответственно.

Способность культур секретировать липазы в КЖ в среде с 1% хлопковым маслом между собой распределялась следующим образом: грибы: *M.miehei* < *R.microsporus* < *A.niger* < *P.melinii*; бактерии: *C. violaceum* < *B. stearothermophilus* < *P. aeruginosa*.

Полученные КЖ отфильтровали и лиофильно высушили. Далее исследовали специфичность липаз по трансэтерификации функциональных группировок: ферментные препараты с общей липазной активностью 50 ед/мл добавляли к смеси метанол : масло (1 : 3, об:об) из расчета к субстрату до 10%. Реакцию трансэтерификации проводили при интенсивном перемешивании, при комнатной температуре. Протекание реакции наблюдали в течение 24 часов с помощью ТСХ на пластинках «Silufol». В качестве подвижной фазы использовали толуол. При этом Rf продуктов ферментативной реакции составляло: 0,3 – триглицериды, 0,5 – диглицериды, 0,75– моноглицериды, 0,9 – метиловые эфиры жирных кислот. Эффективность трансэтерификации оценивали по интенсивности пятен метиловых эфиров жирных кислот и других продуктов ферментативной реакции. Полученные результаты приведены в таблице.

Как видно из таблицы, среди бактериальных препаратов наиболее эффективным является препарат продуцируемой бактерией

P.aeruginosa трансэтерифицирующая способность которого, в условиях проведения экспериментов, составила $85\pm 0,04\%$, тогда как способность бактериальных препаратов *C. violaceum* и *C.violaceum* намного меньше – $24\pm 0,02\%$ и $36\pm 0,03\%$ соответственно.

Таблица – Эффективность ферментативной трансэтерификации триглицеридов до метиловых эфиров жирных кислот $M\pm n$ (n=3)

Ферментные препараты	Количество (%)				
	ТГЦ	ДГЦ	МГЦ	ЖК	МЭЖХ
<i>Бактериальные препараты</i>					
<i>P.aeruginosa</i>	-	-	$3\pm 0,02$	$12\pm 0,02$	$85\pm 0,04$
<i>C. violaceum</i>	$2\pm 0,01$	$2\pm 0,015$	$3\pm 0,01$	$69\pm 0,04$	$24\pm 0,02$
<i>B.Stearothermophilus</i>	$2\pm 0,03$	$3\pm 0,016$	$4\pm 0,03$	$55\pm 0,03$	$36\pm 0,03$
<i>Грибные препараты</i>					
<i>P.melinii</i>	-	$2\pm 0,01$	$4\pm 0,04$	$14\pm 0,01$	$80\pm 0,04$
<i>M.miehei</i>	-	-	$8\pm 0,01$	$36\pm 0,03$	$56\pm 0,03$
<i>A.niger</i>	-	-	-	$59\pm 0,01$	$41\pm 0,04$
<i>R.microsporus</i>	$1\pm 0,02$	$2\pm 0,013$	$2\pm 0,012$	$30\pm 0,012$	$65\pm 0,04$

Причем, грибные препараты также не уступают бактериальным препаратам. *P.melinii* обладает трансэтерифицирующей способностью – $80\pm 0,04\%$, что на 5% меньше чем у бактерии *P.aeruginosa*. Тогда как у препаратов из *M.miehei*, *A.niger* и *R.microsporus* эта способность составила $56\pm 0,01$, $34\pm 0,04$ и $65\pm 0,04\%$ соответственно.

Таким образом, из полученных результатов видно, что бактериальный препарат *P.aeruginosa* обладает наибольшей трансэтерифицирующей способностью. Исходя из этого, продолжаются исследование по подбору оптимальных условий культивирования бактерии.