

## ПОЛУЧЕНИЕ БАКТЕРИАЛЬНЫХ $\beta$ -ГАЛАКТОЗИДАЗ И АНАЛИЗ ИХ АКТИВНОСТИ

Переработка и рациональное использование отходов пищевых производств – актуальная биотехнологическая задача. Одним из направлений переработки молочной сыворотки является получение глюкозо-галактозного сиропа с помощью ферментов  $\beta$ -галактозидаз, которые могут быть выделены из дрожжей, бактерий и грибов [1]. В настоящее время основными продуцентами  $\beta$ -галактозидаз являются мицелиальные грибы, однако их активность на несколько порядков ниже, чем у бактерий.

Цель работы – разработка способа получения внутриклеточных бактериальных  $\beta$ -галактозидаз и анализ их активности.

В качестве продуцентов фермента  $\beta$ -галактозидазы использовали бактерии *B. subtilis*, *E. coli*, *Lactobacillus acidophilus* из коллекции кафедры биотехнологии БГТУ. Подготовку молочной сыворотки осуществляли путем нагрева до 95°C, 15 мин с целью коагуляции белков и пастеризации. За нарастанием содержания бактерий следили по изменению оптической плотности  $D_{600}$ . В конце культивирования клетки осаждали центрифугированием при 6000 об./мин, 10 мин. Для получения  $\beta$ -галактозидаз биомассу клеток обрабатывали лизоцимом, ЭДТА. Концентрацию белков и содержание лактозы определяли рефрактометрическим методом. На рисунке 1 приведены результаты наращивания биомассы для трех культур микроорганизмов.

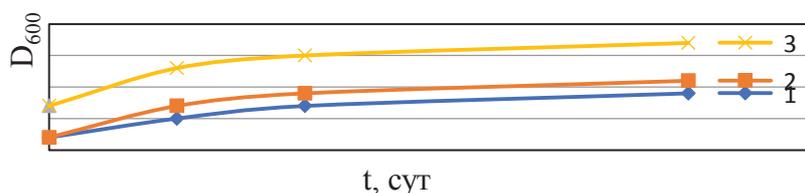


Рисунок 1 – Изменение светорассеивания среды при культивировании бактерий: 1 – *B. subtilis*, 2 – *E. coli*, 3 – *Lactobacillus acidophilus*

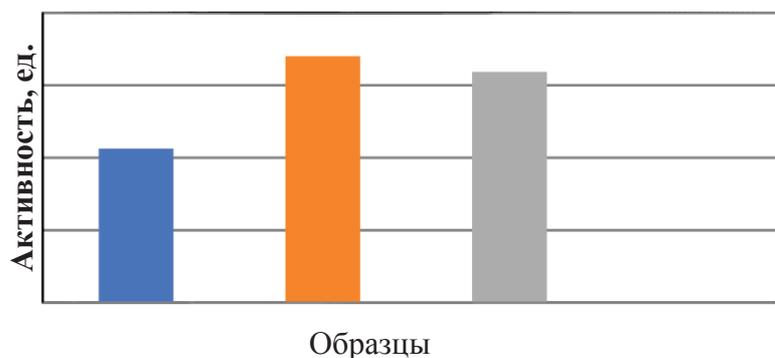
Как видно из рисунка 1, максимальное содержание клеток при росте на молочной сыворотке наблюдается для лактобактерий.

Для выделения внутриклеточных галактозидаз Гр<sup>+</sup> бактерии *Bacillus subtilis* обрабатывали лизоцимом (1 мг/мл), а Гр<sup>(-)</sup> бактерий

*Escherichia coli* и Gr(+) лактобактерии лизоцим и ЭДТА ( $10^{-3}$  М) в течение 1 ч при температуре 37°C. Гидролизованную биомассу бактерий осаждали центрифугированием, а надосадочную жидкость использовали для определения содержания белков и анализа их  $\beta$ -галактозидазной активности рефрактометрическим методом.

На рисунке 2 приведены результаты определения  $\beta$ -галактозидазной активности изученных микроорганизмов.

Известно, что при ферментативном гидролизе лактозы одна единица активности фермента  $\beta$ -галактозидазы соответствует выходу 1 мкМ/мин восстанавливающих сахаров [2]. Как видно из рисунка 2, максимальную  $\beta$ -галактозидазную активность проявляли бактерии *B. subtilis*. В присутствии ЭДТА активность выделенных ферментов терялась, что указывает на присутствие ионов металлов в их активном центре.



**Рисунок 2 – Величина  $\beta$ -галактозидазной активности бактерий:  
1 – *E. coli*, 2 – *B. subtilis*, 3 – *Lactobacillus acidophilus*, 4 – сЭДТА**

Таким образом, в результате проведенной работы установлено, что бактерии *B. subtilis* при культивировании на молочной сыворотке проявляли большую ЭДТА зависимую  $\beta$ -галактозидазную активность, чем клетки *E. coli* и *Lactobacillus acidophilus*.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Костеневич, А.А. Бактериальные  $\beta$ -галактозидазы: биохимическое и генетическое разнообразие / А.А. Костеневич, Л.И. Сапунова // Труды БГУ. – 2013. – Том 8. – С. 52– 63.
2. Скрипнюк, А.А. Современные методы получения  $\beta$ -галактозидаз / А.А. Скрипнюк, С.А. Ряцева // Технические науки. Наука. Инновации. Технологии. – 2014. – Вып. 3. – С. 197–204.