

ПРОБЛЕМИ БІОТЕХНОЛОГІЇ

УДК 577.152.3

М.А. Григор'єва, В.В. Клочко,
Т.С. Тодосійчук

ОПТИМІЗАЦІЯ СКЛАДУ ПОЖИВНОГО СЕРЕДОВИЩА ДЛЯ БІОСИНТЕЗУ ФЕРМЕНТНОГО КОМПЛЕКСУ ПРОДУЦЕНТОМ р. *Streptomyces*

Вступ

Серед ряду біологічно активних речовин ферменти посідають одне з провідних місць у практичному застосуванні в різних галузях промисловості, народного господарства та медицини. Слід також зазначити, що за економічністю і ефективністю отримання таких препаратів саме біотехнологічний спосіб є найдоцільнішим. Тому закономірно, що в усьому світі науковці і біоінженери активно працюють у напрямку пошуку нових продуцентів ензимів та вдосконалення методів їх отримання.

До основних факторів, які впливають на рівень біосинтезу мікроорганізмами ферментів, крім умов культивування, слід віднести склад поживного середовища та співвідношення його окремих компонентів. Значна кількість наукової літератури присвячена саме питанню впливу компонентів середовища на біосинтез ферментів, оптимізації поживних середовищ для культивування різних продуцентів, в тому числі й стрептоміцетів, що продукують широкий спектр ензимів. Так, при вирощуванні *Streptomyces olivaceoviridis* E-86 – продуценту ксиланази – було показано, що ксилан і м'ясний пептон – найкращі джерела вуглецю й азоту, відповідно. Також відзначалося підвищення ферментативної активності в два рази при внесенні в середовище 1,5% (за об'ємом) твіну-80 [1]. Вивчалися утворення штамом *Streptomyces sp.* F 2621 ендоксиланази, ендоглюканази і пероксидази на основному середовищі з солями і дріжджовим екстрактом, що містить різні джерела вуглецю. Найбільші активності ендоглюканази (22,4 од/мл) і пероксидази (0,58 од/мл) були виявлені після двох–чотирьох днів інкубації при 30 °С на основному середовищі, що містило 0,4% ксилану і 0,6% дріжджового екстракту. Це відповідало співвідношенню С:N = 6:1 [2].

Штам *S. lavendulae* NCIM 2421 синтезує ендо- і екзоклітинну холестеролоксидазу (COD).

Оптимальним субстратом для біосинтезу ферменту був картопляний крохмаль – через 72 год культивування активність позаклітинного ферменту становила 2 од/мл. У бульйоні культура також синтезувала внутрішньоклітинну COD з активністю до 104,3 од/мл [3]. Штам *Streptomyces sp.* АМТ-3 мав високу ксиланолітичну активність на середовищі, що містило комерційні ксилани та агропромислові відходи. Найбільший синтез ксиланази (до 70 од/мл) спостерігався на середовищі з ксиланом з деревини; ксилан з пивоварної барди давав активність лише на рівні 16 од/мл [4].

Штам *Streptomyces recifensis var. lyticus* 2435/М при вирощуванні на середовищах на основі соєвого борошна, глюкози та крохмалю синтезує літичний ферментний комплекс, до складу якого входять протеази, протеїнази, глікозидази та мурамідази [5]. Отриманий під час селекційної роботи із застосуванням мутагенезу продуцент має достатньо високий рівень біосинтезу продукту, який можна використовувати як основу медичних та побутових антисептичних засобів широкого спектра антимікробної дії [6].

При врахуванні специфічності процесів біосинтезу ферментів постає питання щодо необхідності досліджень умов культивування і поживних середовищ для оптимального росту штамів-продуцентів і високого рівня синтезу ензимів.

Постановка задачі

Потенційно широкі сфери практичного застосування ферментного комплексу, що синтезується *Streptomyces recifensis var. lyticus* 2435/М, зумовлюють необхідність оптимізації умов його отримання, в тому числі й оптимізації складу поживного середовища на основі попередньо проведених досліджень. Встановлення впливу окремих компонентів середовища на біосинтетичну здатність продуцента та їх оптимального співвідношення дасть можливість збільшити вихід продукту та в цілому підвищити ефективність біотехнологічного процесу його отримання.

Метою даного дослідження було встановлення впливу основних та альтернативних компонентів поживного середовища на рівень біосинтезу ферментного комплексу *Streptomyces recifensis var. lyticus* 2435/М та розробка оптимізованого поживного середовища за ознакою цільової (літичної) активності продукту.

Матеріали і методи дослідження

Об'єктом дослідження був мікробний продуцент лізоenzимного комплексу *Streptomyces recifensis* var. *lyticus* 2435/М, депонований за номером ІМВ Ас-5001, з музею кафедри промислової біотехнології НТУУ "КПІ". Культуру вирощували на рідкому середовищі Чапека (посівному) та раніше підбраному ферментаційному поживному середовищі [7, 8], а також на модифікованих експериментальних середовищах, в яких містились попередньо досліджені аеросил і альтернативне джерело азоту та вуглецю, а саме спеціально оброблене ІЧ-опромінюванням для підвищення поживної ціннос-

ті соєве борошно із серії "пробуджених продуктів" виробництва ТОВ "ЕСО" (Україна) [9].

Отримання посівного матеріалу відбувалось на рідкому середовищі Чапека в колбах на 250 мл із 100 мл поживного середовища на качалках при частоті обертання 220 хв^{-1} протягом 48 год при температурі $28 \pm 1^\circ\text{C}$. Культивування проводилось у колбах Ерленмейера на 750 мл з 200 мл ферментаційного середовища на качалках при частоті обертання 240 хв^{-1} протягом 96 год при температурі $28 \pm 1^\circ\text{C}$.

Поживне середовище оптимізували за вмістом джерел вуглецевого, азотного і фосфорного живлення, а також за вмістом мікроелементів. За контроль брали попередньо розроблене сере-

Таблиця 1. Схема планування експерименту: вісім факторів на чотирьох рівнях [10]

№ п/п	Рівні	Фактор							
		X_1	X_2	X_3	X_4	X_5	X_6	X_7	X_8
1		1	1	1	1	1	1	1	1
2		1	2	1	3	4	4	2	3
3		1	3	2	1	3	4	4	2
4		1	4	2	3	2	1	3	4
5		1	1	3	4	4	2	3	2
6		1	2	3	2	1	3	4	4
7		1	3	4	4	2	3	2	1
8		1	4	4	2	3	2	1	3
9		2	2	3	2	2	2	2	2
10		2	1	3	4	3	3	1	4
11		2	4	1	2	4	3	3	1
12		2	3	1	4	1	2	4	3
13		2	2	4	3	3	1	4	1
14		2	1	4	1	2	4	3	3
15		2	4	2	3	1	4	1	2
16		2	3	2	1	4	1	2	4
17		3	3	3	3	3	3	3	3
18		3	4	3	1	2	2	4	1
19		3	1	4	3	1	2	2	4
20		3	2	4	1	4	3	1	2
21		3	3	1	3	2	4	1	4
22		3	4	1	4	3	1	2	2
23		3	1	2	2	4	1	4	3
24		3	2	2	4	1	4	3	1
25		4	4	4	4	4	4	4	4
26		4	3	4	2	1	1	3	2
27		4	2	3	4	2	1	1	3
28		4	1	3	2	3	4	2	1
29		4	4	2	1	1	3	2	3
30		4	3	2	3	4	2	1	1
31		4	2	1	1	3	2	3	4
32		4	1	1	3	2	3	4	2

довище такого складу (г/л): глюкоза ($C_6H_{12}O_6$) – 6,0 (в ферментаційному середовищі використовувались замість глюкози гідролізований крохмаль – 10,0); соєве борошно – 8,0; хлорид натрію ($NaCl$) – 14,0; фосфат калію двозаміщений (K_2HPO_4) – 2,0; сульфат магнію ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$) – 5,8; хлорид марганцю ($MnCl_2$) – 0,04; хлорид кальцію ($CaCl_2$) – 4,5.

Для проведення експерименту використовували метод ортогональних латинських прямокутників [10]. Схему планування експерименту наведено в табл. 1. Вплив того чи іншого компонента середовища на біосинтетичну здатність культури оцінювали за рівнем літичної активності (ЛА), утворюваного штамом-продуцентом ферментного комплексу.

На основі стандартних кількісних характеристик середовищ було складено матриці за вісьмома факторами (кількість компонентів середовища) на чотирьох рівнях (концентрації кожного компонента) для подальшої роботи. Були приготовані 32 варіанти посівного і ферментаційного середовища, а також варіант з контрольним поживним середовищем (К).

Для визначення літичної активності використовували тест-культуру *Lactobacillus bulgaricus* 51 – ліофільно висушений препарат (ДП “Ензим”, м. Ладижин), яку суспендували у дистильованій воді до оптичної густини 0,7–0,8 (при 540 нм, кюветі 0,5 см). За одиницю літичної активності бралась кількість ферменту, яка знижує оптичну густину суспензії тест-культури на 0,001 за одну хвилину, при розведенні культуральної рідини, що забезпечує лізис суспензії на 25–30 %.

Визначення літичної активності культуральної рідини проводили турбідиметричним методом [11] у такій модифікації: до 4 мл суспензії тест-культури додавали 0,1–0,3 мл культуральної рідини та інкубували протягом 10 хв при 50 °С. До контрольного варіанта додавали 0,1–0,3 мл дистильованої води і інкубували в тих самих умовах. За різницею оптичної густини суспензії до (D_n) та після (D_k) інкубації визначали рівень ЛА. Оптичну густину визначали на фотоколориметрі КФК-3 при $\lambda = 540$ нм в кюветі 0,5 см (контроль – дистильована вода).

Літичну активність визначали за формулою

$$ЛА = (D_n - D_k C) N / 0,001 \tau, \text{ од/мл,}$$

де C – коефіцієнт автолізу (відношення D_n / D_k контролю); N – розведення проби в реакційній суміші, раз.

Результати і їх обговорення

Аналіз результатів попередніх досліджень впливу основних джерел живлення на біосинтетичну здатність продуцента лізоензимного комплексу *Streptomyces recifensis var. lyticus* 2435/М показав доцільність використання в складі ферментаційного середовища спеціально обробленого ІЧ-опромінюванням соєвого борошна [9]. У процесі роботи також було встановлено стимулюючий вплив аеросилу марки А-300, який додавали до середовища при культивуванні, а також здатність культури утилізувати не лише гідролізований, а й нативний крохмаль. Враховуючи це, у складі дослідних поживних середовищ використовували саме ці компоненти, а в контрольних варіантах – базові поживні середовища, наведені вище.

За допомогою методу ортогональних латинських прямокутників та із врахуванням стандартних кількісних характеристик середовищ були складені матриці за вісьмома факторами (кількість компонентів середовища) на чотирьох рівнях (концентрації кожного компонента).

Досліджувані варіанти поживних середовищ та отримані після проведення біосинтезу у вказаних вище умовах значення виходу продукту (лізоензимного комплексу) наведено в табл. 2 і 3.

Вихід продукту залежно від компонентного і кількісного складу варіантів поживних середовищ описувався рівнянням

$$y_{i,j,k,\dots} = b_0 + b_i + b_j + b_k + \dots + \dot{y}_{i,j,k,\dots},$$

де $y_{i,j,k,\dots}$ – похибка вимірювання.

За ортогональною схемою планування проводилась оцінка ефектів впливу для всіх рівнів кожного фактора за формулами (1) і (2) [10]:

$$b_0 = \frac{\sum_{j=1}^N y_j}{N},$$

$$b_{ik} = \frac{\sum_{j=1}^N y_{ij}^k}{N/m} - b_0,$$

де y_j – вихід в j -му варіанті планування; N – загальна кількість варіантів у плані; m – число рівнів кожного фактора; y_{ij}^k – сума виходів у тих варіантах плану, де i -й фактор знаходиться на k -му рівні.

Таблиця 2. Схема оптимізації посівного середовища і вихід продукту в досліджуваних варіантах

№ п/п	Концентрація компонентів, г/л								ЛА, од/мл (вихід продукту)
	Глюкоза	Соєве борошно	NaCl	K ₂ HPO ₄	CaCl ₂	MgSO ₄	MnCl ₂	Аеросил	
1	5	10	1	0,5	1,5	1	0	0	2230
2	5	15	1	2	6	7	0,04	5	2700
3	5	20	5	0,5	4,5	7	0,1	1	2110
4	5	25	5	2	3	1	0,08	10	2060
5	5	10	10	2,5	6	2,5	0,08	1	2820
6	5	15	10	1,5	1,5	5	0,1	10	2130
7	5	20	15	2,5	3	5	0,04	0	2250
8	5	25	15	1,5	4,5	2,5	0	5	1770
9	10	15	10	1,5	3	2,5	0,04	1	2760
10	10	10	10	2,5	4,5	5	0	10	2540
11	10	25	1	1,5	6	5	0,08	0	1920
12	10	20	1	2,5	1,5	2,5	0,1	5	1550
13	10	15	15	2	4,5	1	0,1	0	1920
14	10	10	15	0,5	3	7	0,08	5	1590
15	10	25	5	2	1,5	7	0	1	1480
16	10	20	5	0,5	6	1	0,04	10	1800
17	15	20	10	2	4,5	5	0,08	5	2390
18	15	25	10	0,5	3	2,5	0,1	0	1950
19	15	10	15	2	1,5	2,5	0,04	10	1750
20	15	15	15	0,5	6	5	0	1	1820
21	15	20	1	1,5	3	7	0	10	1620
22	15	25	1	2,5	4,5	1	0,04	1	1310
23	15	10	5	1,5	6	1	0,1	5	1710
24	15	15	5	2,5	1,5	7	0,08	0	1500
25	20	25	15	2,5	6	7	0,1	10	1450
26	20	20	15	1,5	1,5	1	0,08	1	2360
27	20	15	10	2,5	3	1	0	5	1360
28	20	10	10	1,5	4,5	7	0,04	0	1630
29	20	25	5	0,5	1,5	5	0,04	5	1930
30	20	20	5	2	6	2,5	0	0	1740
31	20	15	1	0,5	4,5	2,5	0,08	10	1690
32	20	10	1	2	3	5	0,1	1	1430
К									2300

Таблиця 3. Схема оптимізації ферментаційного середовища і рівень накопичення продукту в досліджуваних варіантах

№ п/п	Концентрація компонентів, г/л								ЛА, од/мл (вихід продукту)
	Крохмаль	Соєве борошно	NaCl	K ₂ HPO ₄	CaCl ₂	MgCl ₂	MnCl ₂	Аеросил	
1	5	10	1	0,5	1,5	0,5	0	0	2150
2	5	15	1	2	6	3	0,04	5	2710
3	5	20	5	0,5	4,5	3	0,1	1	2210
4	5	25	5	2	3	0,5	0,08	10	1910
5	5	10	10	2,5	6	1	0,08	1	3000
6	5	15	10	1,5	1,5	2	0,1	10	2380
7	5	20	15	2,5	3	2	0,04	0	1610

Закінчення табл. 3

№ п/п	Концентрація компонентів, г/л								ЛА, од/мл (вихід продукту)
	Крохмаль	Соєве борошно	NaCl	K ₂ HPO ₄	CaCl ₂	MgCl ₂	MnCl ₂	Аеросил	
8	5	25	15	1,5	4,5	1	0	5	1750
9	10	15	10	1,5	3	1	0,04	1	2730
10	10	10	10	2,5	4,5	2	0	10	2650
11	10	25	1	1,5	6	2	0,08	0	2020
12	10	20	1	2,5	1,5	1	0,1	5	2930
13	10	15	15	2	4,5	0,5	0,1	0	2420
14	10	10	15	0,5	3	3	0,08	5	2570
15	10	25	5	2	1,5	3	0	1	2460
16	10	20	5	0,5	6	0,5	0,04	10	2290
17	15	20	10	2	4,5	2	0,08	5	2650
18	15	25	10	0,5	3	1	0,1	0	2680
19	15	10	15	2	1,5	1	0,04	10	2600
20	15	15	15	0,5	6	2	0	1	2640
21	15	20	1	1,5	3	3	0	10	2990
22	15	25	1	2,5	4,5	0,5	0,04	1	2740
23	15	10	5	1,5	6	0,5	0,1	5	2670
24	15	15	5	2,5	1,5	3	0,08	0	2310
25	20	25	15	2,5	6	3	0,1	10	2430
26	20	20	15	1,5	1,5	0,5	0,08	1	2840
27	20	15	10	2,5	3	0,5	0	5	2040
28	20	10	10	1,5	4,5	3	0,04	0	2600
29	20	25	5	0,5	1,5	2	0,04	5	2630
30	20	20	5	2	6	1	0	0	2870
31	20	15	1	0,5	4,5	1	0,08	10	2650
32	20	10	1	2	3	2	0,1	1	2260
К									2640

На основі розрахунків складено таблиці ефектів впливу різних компонентів посівного (табл. 4) та ферментаційного (табл. 5) середовищ.

На основі аналізу даних ефектів впливу (табл. 4 і 5) було отримано склади оптимізованих посівного і ферментаційного середовищ, які використовували для біосинтезу продукту та перевірки ефекту проведеної оптимізації (табл. 6).

Практична перевірка показала, що вирощування досліджуваного продуцента з використанням оптимізованих середовищ призводить до збільшення виходу продукту в середньому на 15 %.

Слід відзначити схожі закономірності впливів окремих солей у складі посівного і ферментаційного поживних середовищ на біосинтетичну здатність продуцента. Так, в обох оптимізованих поживних середовищах виявився зменшений вміст NaCl, K₂HPO₄ і солі магнію. На-

тім, однаково підвищилася концентрація MnCl₂ і CaCl₂. Незважаючи на загальновідому роль Ca²⁺ в процесах проникнення поживних речовин у мікробну клітину, очевидно, в даному випадку бажано було б у наступних дослідженнях визначити його вплив у більш вузькому діапазоні, зважаючи на наведені коливання рівня ефектів Ca²⁺.

Разом з тим, підвищення виходу продукту на 15 % при культивуванні продуцента на запропонованому ферментаційному середовищі дозволяє говорити про можливість його використання на етапі виробничого біосинтезу лізоenzимного комплексу. Доцільність використання запропонованого поживного середовища визначається також заміною гідролізованого крохмалю в його складі на дещо збільшену кількість нативного крохмалю (див. табл. 6), що здешевить процес підготовки виробничого поживного середовища, оскільки етап гідролізу крохмалю ферментними препаратами виключа-

Таблиця 4. Ефекти впливу компонентів півного середовища на рівень літичної активності продуцента

Глюкоза	Соеве борошно		NaCl		CaCl ₂		K ₂ HPO ₄		MgSO ₄		MnCl ₂		Аеросил	
	Концен-трація, г/л	Ефект	Концен-трація, г/л	Ефект	Концен-трація, г/л	Ефект	Концен-трація, г/л	Ефект	Концен-трація, г/л	Ефект	Концен-трація, г/л	Ефект	Концен-трація, г/л	Ефект
5	+344,06*	+47,81	1	-108,44	1,5	-48,44	0,5	-24,69	0	-70,94	0	-94,69	0	-22,19
10	+30,31	+70,31	5	-123,44	3,0	-37,19	1,5	+72,81	2,5	+89,06	0,04	+101,56	1	+96,56
15	-158,44	+62,81	10	+282,81	4,5	+5,31	2,0	+19,06	5,0	+136,56	0,08	+126,56	5	-39,69
20	-215,94	-180,94	15	-50,94	6,0	+80,31	2,5	-67,19	7,0	-154,69	0,1	-133,44	10	-34,69

Таблиця 5. Ефекти впливу компонентів ферментаційного середовища на рівень літичної активності продуцента

Крохмаль	Соеве борошно		NaCl		CaCl ₂		K ₂ HPO ₄		MgCl ₂		MnCl ₂		Аеросил	
	Концен-трація, г/л	Ефект	Концен-трація, г/л	Ефект	Концен-трація, г/л	Ефект	Концен-трація, г/л	Ефект	Концен-трація, г/л	Ефект	Концен-трація, г/л	Ефект	Концен-трація, г/л	Ефект
5	-265,94	+81,56	1	+75,31	1,5	+56,56	0,5	-3,44	0,5	-98,44	0	-37,19	0	-148,44
10	+27,81	+4,06	5	-62,19	3,0	-132,19	1,5	+16,56	1,0	+170,31	0,04	+7,81	1	+129,06
15	+179,06	+67,81	10	+110,31	4,5	-22,19	2,0	+4,06	2,0	-125,94	0,08	+12,81	5	+12,81
20	+59,06	-153,44	15	-123,44	6,0	+97,81	2,5	-17,19	3,0	+54,06	0,1	+16,56	10	+6,56

* Максимальні значення ефектів впливу компонентів поживних середовищ на рівень літичної активності продуцента.

Таблиця 6. Порівняльна характеристика біосинтетичної здатності культури *Streptomyces recifensis* var. *lyticus* 2435/М при культивуванні на вихідних і оптимізованих поживних середовищах

Компонент	Концентрація, г/л			
	Посівне середовище		Ферментаційне середовище	
	до оптимізації	після оптимізації	до оптимізації	після оптимізації
Глюкоза	6,0	5,0	–	–
Крохмаль гідролізований	–	–	10,0	–
Крохмаль нативний	–	–	–	15,0
Соеве борошно	8,0	15,0	8,0	10,0
NaCl	14,0	10,0	14,0	10,0
K ₂ HPO ₄	2,0	1,5	2,0	1,5
MgSO ₄	5,8	5,0	–	–
MgCl ₂	–	–	2,2	1,0
MnCl ₂	0,04	0,08	0,04	0,1
CaCl ₂	4,5	6,0	2,0	6,0
Аеросил	–	1,0	–	1,0
Літична активність, од/мл	2300 ± 17	2730 ± 15	2640 ± 15	3000 ± 19

ється. Використовуваний продуцент є мутантним штамом, що має підвищену біосинтетичну здатність щодо вихідного штаму *Streptomyces recifensis* var. *lyticus* 2435 та змінене співвідношення ферментів у складі продукту [5]. Вірогідно, що штам-мутант набув здатності синтезувати лізоenzимний комплекс із підвищеним вмістом, в тому числі й амілаз.

Застосований у складі поживних середовищ аеросил, очевидно, впливає стабілізуюче саме на мікробну клітину, підвищуючи її стійкість “по типу іммобілізації”, що відзначалося також у проаналізованій літературі [12].

Той факт, що по відношенню до більшості досліджуваних компонентів посівного і ферментаційного поживних середовищ встановлено подібні закономірності їх впливу, свідчить про адекватність застосованого методу для оптимізації даних середовищ, в тому числі й з погляду на їх економічність, що, однак, не виключає можливості подальшої роботи з метою більш істотного збільшення синтезу продукту.

Висновки

1. Визначені концентрації компонентів досліджуваних середовищ і склад ферментаційно-

го поживного середовища для біосинтезу лізоenzимного комплексу штамом *Streptomyces recifensis* var. *lyticus* 2435/М (див. табл. 6) дають можливість підвищити рівень синтезу цільового продукту в середньому на 15 %.

2. У складі поживного середовища гідролізований крохмаль може бути замінений нативним, що відчутно здешевить процес підготовки виробничого поживного середовища.

3. Аеросил у концентрації одного відсотка виявляє активуючий вплив на біосинтетичний процес, вірогідно, завдяки стабілізації культури продуцента.

Таким чином, проведена оптимізація складу поживного середовища для біосинтезу ферментного комплексу штамом *Streptomyces recifensis* var. *lyticus* 2435/М сприяє підвищенню виходу продукту і ефективності біотехнологічного процесу його отримання.

Надалі доцільно використовувати оптимізоване поживне середовище на стадії біосинтезу в технології для отримання даного ферментного препарату.

М.А. Григорьева, В.В. Клочко, Т.С. Тодосійчук

ОПТИМИЗАЦИЯ СОСТАВА ПИТАТЕЛЬНОЙ СРЕДЫ ДЛЯ БИОСИНТЕЗА ФЕРМЕНТНОГО КОМПЛЕКСА ПРОДУЦЕНТОМ р. *Streptomyces*

Исследовано влияние основных и альтернативных компонентов питательных сред на биосинтетическую активность штамма-продуцента лизоэнзимного комплекса *Streptomyces recifensis* var. *lyticus* 2435/M. На основе ранее полученных результатов в качестве альтернативного источника основного питания использовано специально обработанную ИК-облучением соевую муку и как дополнительный компонент – аэросил марки А-300. В результате проведенной оптимизации определены концентрации компонентов исследуемых сред и состав ферментационной питательной среды для биосинтеза лизоэнзимного комплекса штаммом *Streptomyces recifensis* var. *lyticus* 2435/M, что позволяет повысить уровень синтеза целевого продукта в среднем на 15 %. Культивирование продуцента на предложенных по результатам оптимизации питательных средах повысит выход продукта при одновременном снижении стоимости промышленной питательной среды и самого процесса ее подготовки.

M.A. Grygorieva, V.V. Klochko, T.C. Todosiychuk

COMPONENTS CONTENT OPTIMIZATION OF NUTRITION MEDIUM FOR BIOSYNTHESIS OF ENZYME COMPLEX BY р.*Streptomyces* PRODUCER

In this paper, we study the influence of basic and alternative nutrition medium components on the biosynthetic activity of the lysoenzyme complex *Streptomyces recifensis* var. *lyticus* 2435/M producer. Drawing on the results obtained, we argue that specially treated IR-radiation soy-bean flour can be used as an alternative source of basic feed and the aerosil A-300 can be used as an additional component. As a result of the optimization, we discover the concentration of the examined mediums as well as the composition of a fermentation medium for the biosynthesis of the lysoenzyme complex by the *Streptomyces recifensis* var. *lyticus* 2435/M strain, allowing to increase the level of the product synthesis by 15%. It can be concluded that the producer cultivation on the optimized nutrition medium allows promoting the product output at the simultaneous decline of fermentation nutrition medium cost and its preparation.

1. Ding C.H., Jiang Z.Q., Li X.T. et al. High activity xylanase production by *Streptomyces olivaceoviridis* E-86 // Word J. Microbiol. and Biotechnol. – 2004. – 20, N 1. – P. 7–10.
2. Tuncer M., Kuru A., Isiki M. et al. Optimization of extracellular endoxylanase, endoglucanase and peroxidase production by *Streptomyces* sp. F 2621 isolated in Turkey // J. Appl. Microbiol. – 2004. – 97, N 4. – P. 783–792.
3. Varma R., Nene S. Biosynthesis of cholesterol oxidase by *Streptomyces lavendulae* NCIM 2421 // Enzyme and Microb. Technol. – 2003. – 33, N 2-3. – P. 286–291.
4. Nascimento R., Coelho R., Marques S. et al. Production and partial characterization of xylanase from *Streptomyces* sp. strain AMT-3 isolated from Brazilian cerrado soil // Ibid. – 2002. – 31, N 4. – P. 549–555.
5. Шинкаренко Л.М., Тодосійчук Т.С., Хоккер Х. Дослідження компонентного складу і специфічності літичного ферментного комплексу *Streptomyces recifensis* var. *lyticus* IMB Ac-5001 // Наукові вісті НТУУ “КПІ”. – 2004. – № 1. – С. 138–143.
6. Тодосійчук Т.С., Шинкаренко Л.М., Федоренко В.О., Басілія Л.І. Отримання мутантів *Streptomyces recifensis* var. *lyticus* зі зміненою бактеріолітичною активністю // Мікробіол. журн. – 1998. – № 4. – С. 49–56.
7. Бабенко Ю.С., Шинкаренко Л.Н., Клочко Т.П. Регуляція біосинтезу літичних ферментів штаммом *Actinomyces recifensis* var. *lyticus* 2435 // Тез. докл. V сьезда Укр. мікроб. общества. – К., 1980. – С. 25.
8. Тодосійчук Т.С. Розробка технології гідролітичного ферментного препарату циторіцифен: Автореф. дис. ... канд. техн. наук. – К., 2000. – 25 с.
9. Григор'єва М.А., Тодосійчук Т.С., Москаленко Н.В., Поводзинський В.М. Вплив альтернативних джерел живлення на біосинтетичну здатність продуцента лізоензимного комплексу // Наукові праці НУХТ. – 2007. – № 22. – С. 29–32.
10. Бирюков В.В., Кантере В.М. Оптимизация микробиологических процессов микробиологического синтеза. – М.: Наука, 1985. – 296 с.
11. Павлова И.Н., Жолнер Л.Г., Захарова И.Я. и др. Серинная протеиназа с литическими свойствами // Микробиология. – 1988. – 57, № 3. – С. 398–404.
12. Геращенко И.И., Штатко Е.И., Бондарчук О.И., Чуйко Н.А. Особенности взаимодействия микроорганизмов и ферментов с высокодисперсным кремнеземом // Медицинская химия. – 2003. – 7, № 8. – С. 153–167.