

CZU:54.057:543.645.4+632.4

## SINTEZA ORIENTATĂ A ENZIMELOR LIPOLITICE LA TULPINA FUNGICĂ *Rhizopus arrhizus* CNMN FD 03 ÎN CULTURĂ SUBMERSĂ

<sup>1</sup>CILOCI Alexandra, <sup>2</sup>BULHAC Ion, <sup>1</sup>CLAPCO Steliana, <sup>2</sup>URECHE Dumitru,  
<sup>1</sup>DVORNINA Elena, <sup>1</sup>LABLIUC Svetlana, <sup>1</sup>MATROI Alexandra

<sup>1</sup>Institutul de Microbiologie și Biotehnologie

<sup>2</sup>Institutul de Chimie

**Rezumat.** A fost stabilit efectul stimulator al complexului heterometalic în bază de piridin-2,6-dicarbonil diclorurei și sărurile de Sr(II) asupra sintezei lipazelor exocelulare la micromiceta *Rhizopus arrhizus* CNMN FD 03. În baza rezultatelor obținute a fost elaborat un procedeu de sinteză orientată a lipazelor ce prezintă un șir de avantaje precum, majorarea activității lipolitice cu 79,5% și reducerea duratei de cultivare cu 24 ore, fapt ce asigură obținerea în termeni restrânși (1 zi) și cu cheltuieli diminuate a preparatelor enzimactice lipolitice cu activitate sporită.

**Cuvinte cheie:** lipaze, compuși coordinativi, fungi miceliali, sinteză orientată, procedee de cultivare.

## ORGANIZED SYNTHESIS OF LIPOLYTIC ENZYMES IN FUNGIC STEM *Rhizopus arrhizus* CNMN FD 03 IN SUBMERSED CULTURE

**Abstract.** The stimulatory effect of the heterometallic complex based on pyridine-2,6-dicarbonyl dichloride and Sr(II) salts on the exocellular lipases synthesis in *Rhizopus arrhizus* CNMN FD 03 fungal strain was established. Based on the obtained results, a method of lipase synthesis was developed. The proposed method is characterized by some advantages, such as increase of lipolytic activity by 79.5% and reduction of the cultivation duration by 24 hours, which ensures the obtaining in short terms (1 day) and with reduced costs of high-activity lipolytic enzyme preparations.

**Keywords:** lipases, coordinative compounds, mycelial fungi, oriented synthesis, methods of cultivation.

Lipazele (3-acil-glicerol-hidrolaze) reprezintă catalizatori biologici multifuncționali caracterizați prin capacitatea de a realiza atât hidroliza acilgliceridelor până la glicerină și acizi grași liberi, cât și reacții de liză a alcoolilor, acizilor, reacții de esterificare, prezentând importanță majoră pentru procesele biotehnologice. Lipazele microbiene atrag atenția prin specificitatea înaltă față de substrat și stabilitate în condiții chimice și fizice variate [3], fiind pe larg utilizate în industria alimentară, chimică, farmaceutică, medicină, producerea detergenților biodegradabili, fabricarea articolelor din piele etc. Printre microorganismele producătoare de lipaze preferință se acordă fungilor miceliali, capabili să producă un spectru extins de enzime extracelulare care pot fi recuperate ușor din mediul de cultivare, fără costuri excesive [2].

În ultimele decenii în scopul sporirii biosintezei enzimelor la micromicete sunt intens studiați compușii coordinativi ai elementelor 3d, unii manifestându-se promițător în calitate de biostimulatori ai biosintezei lipazelor. Astfel, includerea în

mediul nutritiv a compușilor coordinativi ai cobaltului(III) –  $[\text{Co}(\text{DH})_2(\text{An})_2]_2[\text{ZnF}_6] \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  și  $[\text{Co}(\text{DH})_2(\text{An})_2]_2[\text{TiF}_6]$  (DH – monoanion de dimetilglioximă, An – anilină), în calitate de biostimulatori, asigură creșterea capacității biosintetice a micromicetei *Rhizopus arrhizus* CNMN FD 03 producătoare de lipaze și reducerea duratei de cultivare [4, 5].

Studiul prezent a avut drept scop elaborarea unui procedeu de sinteză orientată a lipazelor la micromiceta *Rhizopus arrhizus* CNMN FD 03 cu aplicarea în calitate de stimulator a unui complex heterometalic în bază de piridin-2,6-dicarbonil diclorură și săruri de Sr(II), selectat în cadrul unor experiențe de screening anterioare.

Rezultatele cercetărilor (Tabelul 1) demonstrează că pe mediul cu biostimulatorul  $[\text{SrL}_3][\text{Co}(\text{NCS})_4]$ , în concentrațiile de 0,0025; 0,005; 0,010 și 0,015 g/L, sporirea activității lipolitice a fost de 13,1-79,5% față de martor, maxima de biosinteză a lipazelor la tulpina producătoare la cultivare în condiții clasice constituind 34167 U/mL, față de 28413-61321 U/mL în variantele experimentale, concentrația optimă fiind de 0,005 g/L. S-a relevat inclusiv faptul că activitatea variantelor experimentale deja în prima zi de cultivare prezintă valori ale activității lipolitice superioare nivelului probei de referință manifestat în a 2-a zi – perioada de acumulare maximală a lipazelor exocelulare caracteristică pentru producător.

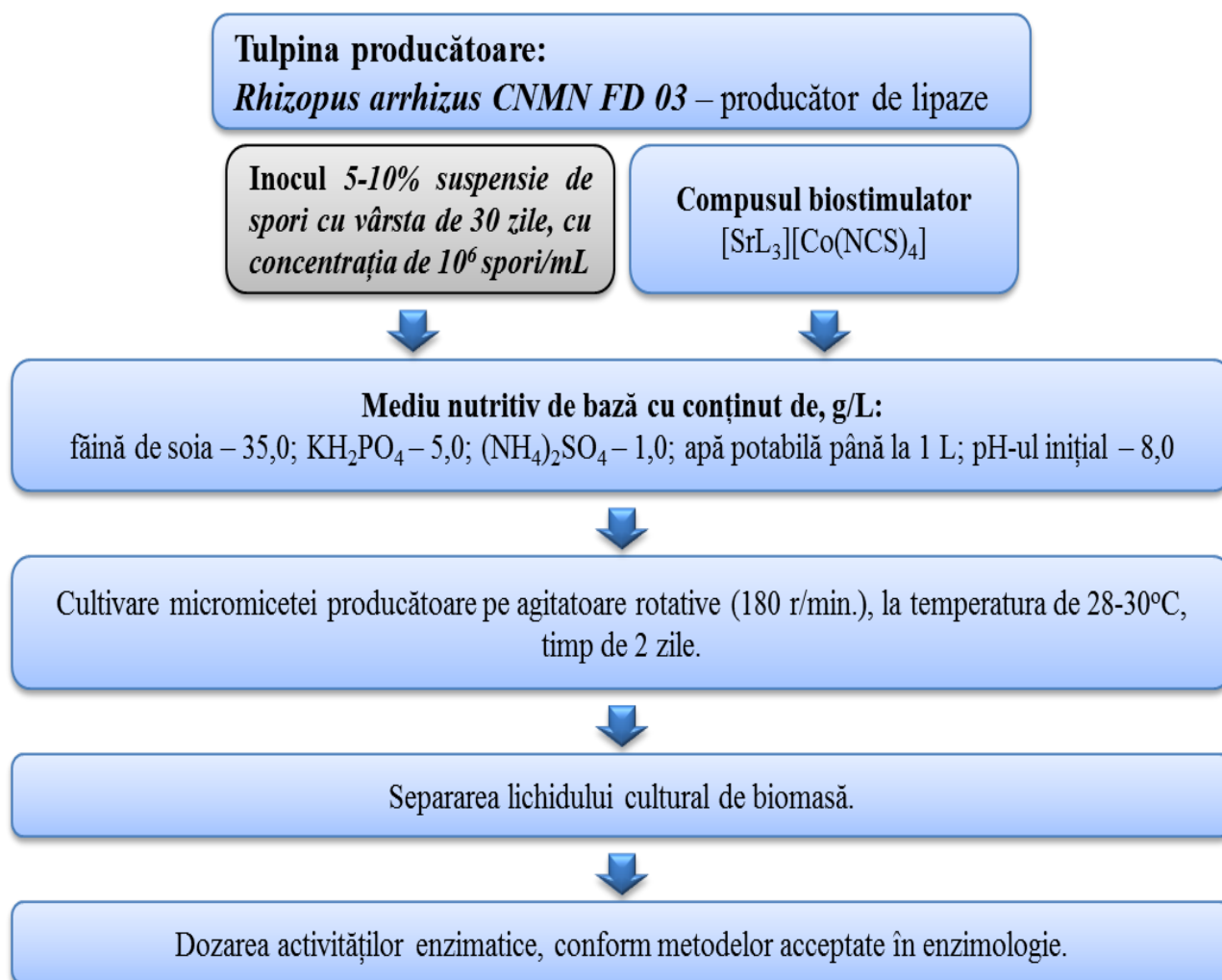
**Tabelul 1.** Influența diferitor concentrații a stimulatorului ( $[\text{SrL}_3][\text{Co}(\text{NCS})_4]$ ) asupra activității lipolitice a tulpinii *Rhizopus arrhizus* CNMN FD 03 la cultivarea submersă

Variante	Conc. stimulator, g/L	1-a zi		a 2-a zi	
		Activitatea, U/mL	%, de referință*	Activitatea, U/mL	%, față de martor
$[\text{SrL}_3][\text{Co}(\text{SCN})_4]$	0,0025	39233	124,5/114,8	40678	119,1
	0,005	61321	194,6/179,5	35397	103,6
	0,010	38634	122,6/113,1/	33723	98,7
	0,015	28413	90,2	27334	80,0
<b>martor</b>	-	31500	100,0	34167	100,0

\*194,6/179,5/105,6 – față de martorul zilei/ față de valoarea maximă a martorului (ziua a 2-a).

Cea mai favorabilă concentrație a compusului coordinativ este cea de 0,005 g/L care asigură în prima zi de cultivare un spor al activității lipolitice cu 94,6% față de martorul din aceeași zi și 79,5% față de valoarea maximă relevată la proba martor (34167 U/mL) din ziua a 2-a de cultivare. Datele obținute au servit drept bază în

elaborarea unui procedeu de sinteză orientată a lipazelor la micromiceta *Rh. arrhizus* (Figura 1).



**Fig. 1.** Schema de realizare a procedurii de sinteză orientată a lipazelor la micromiceta *Rh. arrhizus* CNMN FD 03 cu utilizarea complexului Sr(II)

## Concluzii

A fost stabilit efectul stimulator al complexului heterometalic în bază de piridin-2,6-dicarbonil diclorură și săruri de Sr(II) asupra sintezei lipazelor exocelulare la micromiceta *Rh. arrhizus* CNMN FD 03. Rezultatele au fost valorificate în elaborarea unui procedeu de sinteză orientată a lipazelor ce prezintă un șir de avantaje: majorarea activității lipolitice cu 79,5% și reducerea duratei de cultivare cu 24 ore, fapt ce asigură obținerea preparatelor enzimactice cu activitate sporită în termeni restrânși.

*Cercetările au fost efectuate în cadrul PS 2020-2023 a Republicii Moldova prin proiectul 20.80009.5007.28 „Elaborarea noilor materiale multifuncționale și tehnologii eficiente pentru agricultură, medicină, tehnică și sistemul educațional în baza complexelor metalelor „s” și „d” cu liganzi polidentafi” cu finanțare de către ANCD.*

## **Bibliografie**

1. DESEATNIC, A.; SÎRBU, T.; TIURINA, J.; LABLIUC, S. Tulpină de fungi *Rhizopus arrhizus* Fisher 67, producător de enzime lipolitice. Brevet de invenție MD 2458 2004.07.23.
2. SINGH, A.K.; MUKHOPADHYAY, M. Overview of fungal lipase: A review. *Applied Biochemistry and Biotechnology*. 2012, 166(2), 486-520.
3. АЛЬМЯШЕВА Н.Р.; ГОЛЫШКИН А.В. Закономерности биосинтеза липолитических ферментов ксилотрофным базидиомицетом *Fomes fomentarius*, Современные проблемы науки и образования. 2016. № 6, <https://science-education.ru/ru/article/view?id=25835>
4. ДЕСЯТНИК, А.А. и др. Некоторые аспекты биосинтеза внеклеточных гидролаз микромицетов из родов *Rhizopus* и *Aspergillus* в присутствии комплексных соединений кобальта(III) с фторосодержащими анионами. *Buletinul AȘM, Științele vieții*. 2010, 1(310), p. 121-128.