Archive of SID

بهینه سازی رشد و تولید آنزیم کاتالاز در باکتری *Kocuria* sp. ASB 107 در محیط کشت های اقتصادی

عزت عسگرانی*[1]، الهام گودینی[2]، جمشید فولادی[3]

تاریخ دریافت : ۱۳۹۴/۱۲/۲
تاریخ پذیرش :۱۳۹۵/۷/۵

چکیده

کاتالاز آنزیمی با توانایی تبدیل H_2O_2 به آب و اکسیژن است. کاتالاز در صنایع مختلف به خصوص صنعت نساجی مورد توجه قرار گرفته است. در صنعت نساجی H_2O_2 به عنوان سفیدکننده استفاده می‌شود. این فرآیند در pH بالا انجام می‌شود. بنابراین کاتالاز قلیایی جهت احیای H_2O_2 بسیار مناسب است. باکتری Kocuria sp. ASB 107 دارای مقدار زیادی کاتالاز قلیایی است. در این مطالعه برای دستیابی به بیشترین میزان رشد باکتری و تولید کاتالاز از محیط کشت‌های ارزان قیمت نظیر ملاس چغندر قند، نیشکر و آب پنیر استفاده شد. منحنی رشد رسم شد و در اواخر فاز لگاریتمی، محصول تخمیر سانتریفیوژ و فعالیت آنزیمی با روش اسپکتروفتومتری درطول موج ۲۴۰ نانومتر بررسی شد. برای تعیین میزان رشد باکتری از وزن بیوماس خشک استفاده شد. بالاترین فعالیت آنزیم (۲۱۳۶/۲۵ U/mL) و رشد باکتریایی (۵/۱۹ g/L) با استفاده از ملاس چغندرقند (۱ درصد) و عصاره مخمر (۲/۵ درصد) حاصل شد. همچنین با ۴ درصد آب پنیر به عنوان منبع کربن فعالیت کاتالازی و رشد به ترتیب به میزان ۳۰۳۲/۵ U/mL و ۶/۱۶ g/L مشاهده شد. نتایج پژوهش نشان داد ملاس چغندرقند و نیشکر و آب پنیر سوبستراهای ارزان و مناسبی جهت تولید آنزیم و رشد سلول هستند و منبع نیتروژن غیرآلی اوره مناسب نیست.

واژهای کلیدی: ***آب پنیر، بهینه سازی، کاتالاز، ملاس، Kocuria sp. ASB 107***

مقدمه

کاتالاز آنزیمی است که قادر است H_2O_2 را به آب و اکسیژن تبدیل کند (Soung *et al*., 2000). در پروسه های صنعتی، باکتری ها در معرض تنش های اکسیداتیو قرار می‌گیرند، بنابراین علاوه بر مکانیسم های ترمیم، توانایی تولید آنزیم‌های آنتی اکسیداتیو نظیر کاتالاز یک فاکتور مهم مقاومت در آن‌ها محسوب می‌شود (Rochat *et al*., 2006). امروزه آنزیم کاتالاز به دلیل

۱-دانشیار گروه بیوتکنولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه الزهرا (س) ، تهران
۲- کارشناس ارشد میکروبیولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه الزهرا (س) ، تهران
*(نویسنده مسئول: asgarani@alzahra.ac.ir)
۳- استادیار گروه بیوتکنولوژی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه الزهرا (س) ، تهران

www.SID.ir

Archive of SID

کاربردهای بالقوه‌اش در صنایع مختلف به‌خصوص صنعت نساجی مورد توجه قرار گرفته است. در این صنعت از H_2O_2 به‌عنوان عامل سفیدکننده استفاده می‌شود.

افزودن مواد شیمیایی نظیر سدیم بیوسولفیت یا هیدروسولفیت جهت احیای H_2O_2 منجر به ایجاد غلظت بالا و نامطلوب نمک در فرآیند می‌شود. یک جایگزین مناسب برای احیای H_2O_2 استفاده از آنزیم کاتالاز است. از آنجایی که H_2O_2 تحت شرایط قلیایی فعال‌تر است، فرآیند سفید کردن نیز در pH بالا، بهتر انجام می‌شود (Hua *et al*., 2007)، بنابراین کاتالاز قلیایی جذابیت زیادی در این صنعت دارد.

باکتری *Kocuria sp.* ASB 107 از چشمه آب سیاه رامسر جداسازی شده است و شناسایی میکروبیولوژیکی و مولکولی آن انجام گرفته است. این باکتری مقاومت نسبتاً بالایی در برابر اشعه گاما و UV دارد. سد آنتی اکسیدانی در این باکتری شامل آنزیم‌هایی نظیر کاتالاز است (Asgarani *el al*., 2012) و این آنزیم در pH های قلیایی فعال‌تر می‌باشد.

کاهش زمان رسیدن به محصول مطلوب و استفاده از سوبستراهای ارزان قیمت، تولید آنزیم را در مقیاس صنعتی مقرون به صرفه و اقتصادی می‌سازد. منبع کربن از اجزای اصلی و هزینه‌بر محیط کشت است. از این رو در میکروبیولوژی صنعتی منابع کربن ارزان قیمت مانند ملاس، آب پنیر، گلیسرول، پساب‌های سولفیتی و... مورد استفاده قرار می‌گیرند.

ملاس محصول نهایی صنایع قند است و خلوص آن به اندازه‌ای کاهش یافته که ادامه کریستالیزاسیون قند از آن غیراقتصادی است. امروزه چند نوع ملاس شناخته شده و به هر ماده غذایی که دارای بیش از ۴۳ درصد قند باشد ملاس گفته می‌شود. انواع ملاس شامل ملاس نیشکر، ملاس چغندر قند، ملاس مرکبات، ملاس نشاسته و... دارای ترکیبات شیمیایی متفاوتی هستند. ترکیب ملاس توسط فاکتورهایی مانند نوع خاک، دما، رطوبت، فصل تولید، واریته گیاه و...تحت تأثیر قرار می‌گیرد. بنابراین تفاوت‌های قابل توجهی در محتوای شیمیایی، طعم، رنگ، ویسکوزیته و محتوای کلی قند در انواع ملاس وجود دارد. کربوهیدرات‌ها و قندها بخش مهم ترکیبات ملاس را تشکیل می‌دهند، از این رو می‌توانند به عنوان منبع کربن مورد استفاده قرار بگیرند (Aruldoss *et al*., 2014)

آب پنیر محصول جانبی صنایع لبنی است که دارای ۵-۴ درصد لاکتوز، ۱-۰/۸ درصد پروتئین، و مقادیر کمتری اسیدهای آلی، نمک‌ها و ویتامین‌هاست. دفع آب پنیر به دلیلBOD (نیاز بیوشیمیایی به اکسیژن جهت تجزیه مواد آلی) بالا و مسأله زیست محیطی نیازمند پالایش است که امری وقت‌گیر و پرهزینه می‌باشد. به همین دلیل و همچنین به علت محتوای بالای لاکتوز، آب پنیر به عنوان سوبسترایی مناسب برای انواع تخمیر قابل استفاده است (Savvides *et al*., 2012).

هدف از پژوهش حاضر دستیابی به بیشترین میزان رشد و تولید آنزیم کاتالاز در باکتری *Kocuria* sp. ASB 107 با استفاده از سوبستراهای ارزان قیمت نظیر ملاس چغندر قند، ملاس نیشکر و آب پنیر است.

www.SID.ir

Archive of SID

مواد و روش‌ها

سویه و محیط کشت

باکتری مورد استفاده *Kocuria* sp. ASB 107 است که محیط کشت معمول آن محیط TSA (Tryptic Soy Agar) می‌باشد و در بانک ذخایر میکروبی آزمایشگاه ملی میکروبیولوژی دانشگاه الزهرا (س) تهران نگهداری می‌شود.

محیط کشت اقتصادی از ملاس چغندر قند (1, 2, 3, 4 % v/v)، عصاره مخمر (0.5, 1.5, 2.5, 3.5 % w/v)، آمونیوم سولفات (0.05 % w/v)، NaCl (1.5 % w/v) تهیه شد.

برای جلوگیری از واکنش میلارد بین عامل آلدهیدی قند موجود در ملاس و پروتئین‌های موجود در محیط کشت مانند عصاره مخمر، ملاس به طور جداگانه استریل شده و پس از سرد شدن به محیط کشت افزوده می‌شود (Dehghan *et al*., 2013)

.

به منظور بررسی تأثیر سایر منابع کربن ارزان قیمت بر میزان رشد باکتری و تولید آنزیم کاتالاز، ملاس نیشکر و آب پنیر با گرادیان غلظتی مشابه جایگزین ملاس چغندر قند گردید. در غلظت بهینه منبع کربن، گرادیان غلظتی عصاره مخمر به عنوان منبع نیتروژن اصلی بررسی شد. همچنین تأثیر اوره به جای عصاره مخمر بر رشد و تولید آنزیم ارزیابی شد.

رسم منحنی رشد باکتری

به منظور رسم منحنی رشد، باکتری در۵۰ میلی لیتر محیط کشت TSB کشت داده شد. سپس در شیکر انکوباتور با دمای ۳۰C° و ۱۵۰ دور بر دقیقه به مدت ۱۲ ساعت گرماگذاری شد. در مرحله بعد میزان ۵ درصد (v/v) از مایه تلقیح (پیش کشت) در ۱۰۰ میلی لیتر محیط کشت اصلی تلقیح شد و ضمن گرماگذاری هر ۲ ساعت نمونه برداری صورت گرفت و OD_{600} نمونه‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد.

بهینه سازی منبع کربن و اندازه گیری میزان رشد و فعالیت کاتالازی

جهت بررسی تأثیر میزان و نوع منبع کربن بر رشد باکتری و فعالیت کاتالازی، محیط کشت‌هایی با ملاس چغندر قند، ملاس نیشکر و آب پنیر به‌عنوان منبع کربن اصلی با گرادیان غلظتی (1, 2, 3, 4 % v/v) تهیه شد.

در هر محیط کشت پس از رسیدن باکتری به اوایل فاز سکون، سانتریفیوژ (8000 rpm, 4°C, 15 min) انجام شد و به منظور حذف ترکیبات محیط کشت، زیست توده سلولی ۵ مرتبه توسط سرم فیزیولوژی (NaCl 0.9 %) شستشو داده شد. برای تعیین میزان رشد باکتری، زیست توده سلولی در فور ۶۵C° به مدت ۲۴ ساعت خشک شد.

به منظور بررسی فعالیت کاتالازی در محیط کشت‌های مذکور، پس از رسیدن باکتری به اواخر فاز لگاریتمی، سانتریفیوژ انجام شده و زیست توده سلولی ۵ مرتبه توسط بافر فسفات (pH : ۷ ، ۵۰ میلی مولار) شستشو داده شد. سپس جهت استخراج

www.SID.ir

Archive of SID

آنزیم درون سلولی، زیست توده سلولی توسط لیزوزیم تیمار و سانتریفیوژ مجدد انجام شد و محلول رو شناور حاوی آنزیم کاتالاز جهت سنجش فعالیت آنزیمی جمع آوری گردید.

فعالیت کاتالازی با روش اسپکتروفتومتری با بررسی کاهش جذب نوری ناشی از تجزیه H_2O_2 (۳۵ میلی مولار) در حضور بافرفسفات توسط کاتالاز در طول موج ۲۴۰ نانومتر سنجش شد. در این روش یک واحد فعالیت آنزیمی به صورت مقدار آنزیمی که ۱ میکرو مول H_2O_2 را در شرایط آزمایش (دما ۲۵°C و pH: ۷) به آب و اکسیژن تبدیل می‌کند تعریف می‌شود (Zeng *et al.*, 2010).

$$Unit = (\Delta OD_{240}/43.6\ M^{-1}Cm^{-1})\times 10^6$$

بهینه سازی منبع نیتروژن

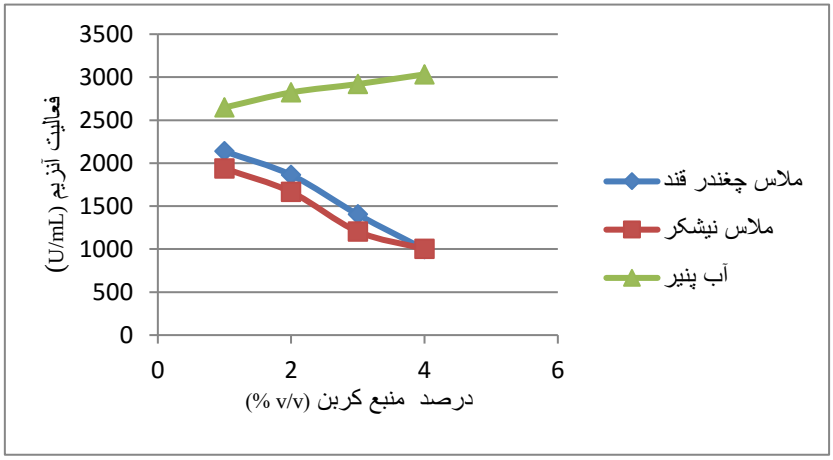
پس از انتخاب میزان بهینه منبع کربن، عصاره مخمر و اوره با گرادیان غلظتی (0.5, 1.5, 2.5, 3.5 % w/v) به عنوان منبع نیتروژن اصلی استفاده و میزان رشد باکتری و فعالیت کاتالازی بررسی گردید.

تأثیر H_2O_2 بر افزایش تولید آنزیم کاتالاز

به منظور بررسی تأثیر تنش‌های اکسیداتیو نظیر H_2O_2 بر افزایش فعالیت آنزیم در اواخر فاز لگاریتمی رشد باکتری، H_2O_2 با رقت های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی مولار به محیط کشت تلقیح شد و فعالیت کاتالازی با مقدار پایه مقایسه گردید

نتایج و بحث

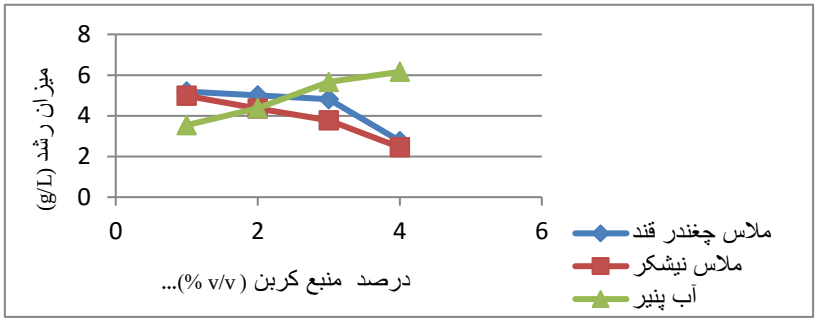
بررسی میزان رشد و فعالیت آنزیمی باکتری در محیط کشت‌های با نوع و میزان متفاوت از منبع کربن نشان داد با ۱ درصد ملاس چغندر قند و ملاس نیشکر و ۴ درصد آب پنیر در محیط کشت نتایج مناسبی به دست می‌آید (شکل ۱ و ۲).



شکل ۱: بررسی فعالیت آنزیمی با استفاده از منابع کربن مختلف

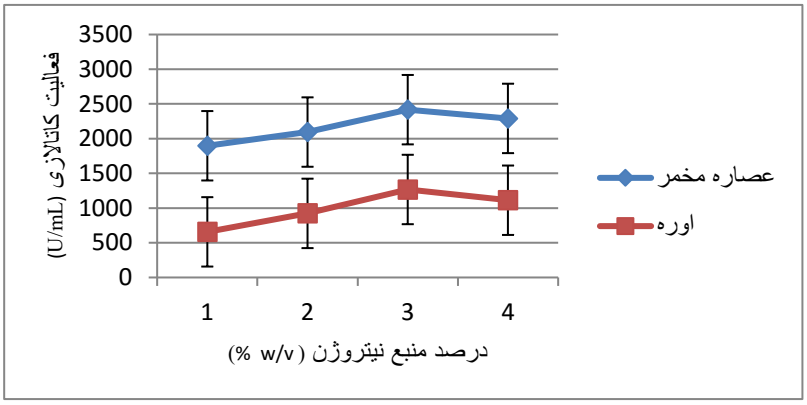
www.SID.ir

Archive of SID



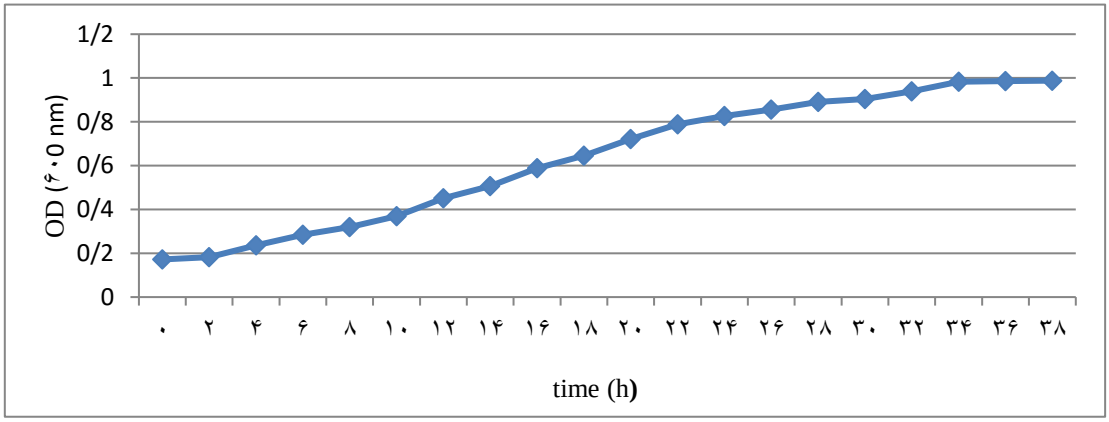
شکل ۲: بررسی میزان رشد باکتری با استفاده از منابع کربن مختلف

با در نظر گرفتن ملاس چغندر قند با غلظت ۱ درصد به عنوان یک منبع کربن مناسب، بهینه سازی منابع نیتروژن نیز انجام شد و نتایج نشان داد که عصاره مخمر به میزان ۲/۵ درصد نسبت به اوره بر رشد و تولید آنزیم مؤثرتر می‌باشد (شکل ۳).



شکل۳:بررسی میزان رشد باکتری با استفاده از منابع کربن

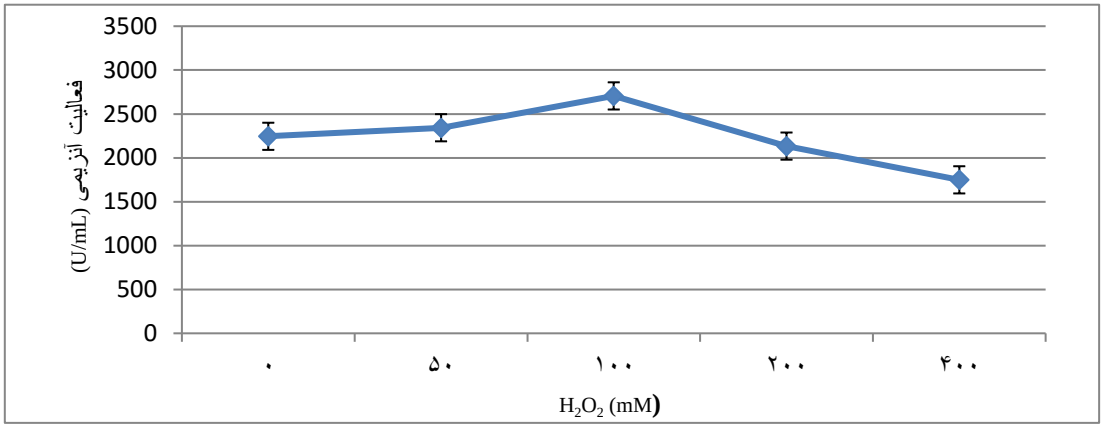
با در نظر گرفتن میزان بهینه منابع کربن و نیتروژن در محیط کشت، با توجه به منحنی رشد باکتری (شکل ۴) در اواخر فاز لگاریتمی رشد، تحریک فعالیت کاتالازی آنزیم توسط غلظت‌های متفاوت H_2O_2 انجام شد و نتایج نشان داد که ۱۰۰ میلی مولار H_2O_2 نسبت به سایر غلظت‌ها به میزان بیشتری فعالیت آنزیمی را تحریک می‌کند (شکل ۵).



شکل ۴: منحنی رشد باکتری

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۵: تأثیر غلظت‌های متفاوت H_2O_2 بر فعالیت کاتالازی در محیط کشت حاوی ۱ درصد ملاس چغندر قند به عنوان منبع کربن اصلی و ۲/۵ درصد عصاره مخمر به عنوان منبع نیتروژن اصلی

بیشترین فعالیت کاتالازی این باکتری در دمای ۳۰°C، pH: ۹ و هوادهی ۱۵۰دور بر دقیقه دیده می‌شود.

در صنایع نساجی بیش از ۱۰۰ لیتر آب برای پردازش هر یک کیلوگرم پارچه استفاده می‌شود. در مرحله رنگ‌بری H_2O_2 به کار برده می‌شود و حذف H_2O_2 های اضافی پس از این مرحله ضروری است تا در مراحل بعدی پردازش پارچه تداخل ایجاد نشود. بخش زیادی از آب مصرفی در این صنعت صرف حذف H_2O_2 های اضافی باقی‌مانده از مرحله رنگ‌بری می‌شود که این امر مستلزم صرف هزینه و زمان زیادی است (Amorim *et al.*, 2002). برای رفع این مشکل و نیز کاهش مصرف آب می‌توان از کاتالاز جهت حذف H_2O_2 استفاده کرد. کاتالاز تولید شده در باکتری *Kocuria* sp. ASB 107 که دارای بیشترین فعالیت در pH قلیایی است در این صنعت می‌تواند مورد استفاده قرار بگیرد.

Shi و همکارانش در سال ۲۰۰۸ تولید میزان زیادی کاتالاز قلیایی در باکتری *Bacillus subtilis* را گزارش کردند که این باکتری در محیط کشت حاوی نشاسته، عصاره مخمر و پلی پپتون قادر به تولید ۳۵۰۰U/mL آنزیم می‌باشد.

در پژوهش حاضر سعی شده است با دید کاهش هزینه‌های تولید آنزیم کاتالاز با استفاده از پسماندهای صنعتی ارزان قیمت در جهت تولید اقتصادی و به صرفه‌ی این آنزیم گام اولیه برداشته شود. بنابراین از ملاس چغندر قند، ملاس نیشکر و آب پنیر به منابع کربن ارزان قیمت استفاده شد. نتایج نشان داد که میزان تولید آنزیم کاتالاز در باکتری *Kocuria* ASB107 در محیط کشت حاوی ملاس چغندر قند (۲۱۳۶/۲۵ U/mL)، ملاس نیشکر (۱۹۳۷/۵ U/mL)، آب پنیر (۳۰۳۲/۵ U/mL) می باشد. بنابراین استفاده از منابع کربن ارزان قیمت جهت تولید آنزیم کاتالاز در مقایسه با سایر پژوهش‌هایی که از منابع کربن پرهزینه استفاده شده است معقول‌تر به نظر می‌رسد. در این شرایط باکتری *Kocuria* ASB107 توان تولید مقدار مناسب آنزیم کاتالاز را داراست که تا حدود زیادی قابل مقایسه با تولید کاتالاز قلیایی در *Bacillus subtilis* می‌باشد.

از سوی دیگر استفاده از آب پنیر به دلیل ارزان بودن و همچنین حل مشکلات دفع پساب به عنوان سوبسترای تولید آنزیم کاتالاز می‌تواند بسیار مناسب باشد. البته منابع نیتروژن همراه قند از جمله پروتئین‌های آب پنیر می‌تواند اثرات نامطلوبی

www.SID.ir

Archive of SID

تحمیل کرده و به عنوان فاکتور محدود کننده عمل کند که این امر به دلیل ممانعت از ایجاد نسبت کافی C/ N می‌باشد. همچنین اساساً منابع نیتروژن غیر آلی نظیر اوره برای سنتز کاتالاز و رشد سلول مناسب نمی‌باشند (Hua *et al*., 2007).

در پژوهش‌های بسیاری استفاده از ملاس و آب پنیر به عنوان سوبستراهای ارزان قیمت برای تولید آنزیم‌ها، اسیدهای آمینه، اتانول و ... گزارش شده است. Xiao و همکارانش در سال ۲۰۰۷ تولید استوئین را در *B. subtilis* CICC 10025 در محیط کشت حاوی ملاس بهینه کردند. shikha و همکارانش در سال ۲۰۰۷ تولید آنزیم پروتئاز قلیایی (۲۸۵ U/mL) را در *Bacillus pantotheneticus* با استفاده از ملاس به‌عنوان منبع کربن گزارش کردند. Silva و همکارانش در سال ۲۰۰۹ از آب پنیر به عنوان تنها منبع کربن برای تولید زانتان از *Xanthomonas campestris* استفاده کردند و گزارش کردند که تولید زانتان از آب پنیر بازده بالاتری نسبت به گلوکز به عنوان منبع کربن نشان داده است.

افزودن H_2O_2 به عنوان استرس اکسیداتیو جهت افزایش تولید کاتالاز استفاده می‌شود. البته با این کار رشد سلولی به میزان قابل توجهی کاهش می‌یابد. از این رو غلظت های کم H_2O_2 جهت تحریک فعالیت آنزیم استفاده می‌شود (Yan *et al*., 2007).

H_2O_2 یکی از گونه های اکسیژن فعال (ROS) است که با ایجاد رادیکال‌های هیدروکسیل می‌تواند آسیب‌های جدی به بیومولکول‌ها از جمله لیپیدها، اسیدهای آمینه و اسیدهای نوکلئیک وارد کند. Capua و همکارانش در سال ۲۰۱۱ به بررسی تأثیر غلظت‌های متفاوت H_2O_2 بر فعالیت کاتالازی چهار سویه *Acinetobacter* مقاوم به پرتو پرداختند که با استفاده از ۲/۵ میلی مولار H_2O_2 اثر افزایشی بر فعالیت کاتالازی گزارش شد.

در پژوهش حاضر نیز مقادیر ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی مولار H_2O_2 به عنوان استرس اکسیداتیو به محیط کشت‌های باکتری اضافه شد. نتایج نشان داد که بیشترین فعالیت آنزیمی (۲۷۰۴/۱۲۸ U/mL) با ۱۰۰ میلی مولار H_2O_2 مشاهده می‌شود (۵۶۷/۸۷۸ U/mL) افزایش فعالیت آنزیمی در مقایسه با حالت قبل از القا توسط H_2O_2). افزودن ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی مولار H_2O_2 منجر به کاهش فعالیت کاتالازی نسبت به شاهد می‌شود. و این نشان می‌دهد که میزان H_2O_2 وارد شده به سلول بیش از توانایی سلول برای تجزیه آن‌هاست. لذا افزودن H_2O_2 بیش از ۱۰۰ میلی مولار می‌تواند سبب آسیب به سلول و کاهش فعالیت آنزیمی باکتری شود.

نتیجه گیری کلی

باکتری *Kocuria* ASB107 بصورت بالقوه توانایی تولید مقدار زیادی آنزیم کاتالاز را دارد. پژوهش‌ها نشان داده است که آنزیم تولیدی توسط این باکتری در محیط‌های قلیایی فعالیت بالایی دارد. چنین آنزیم‌هایی از نظر صنعتی حائز اهمیت هستند. نتایج

www.SID.ir

Archive of SID

حاصل از این پژوهش نشان می‌دهد *Kocuria* ASB107 می‌تواند به عنوان کاندید مناسبی برای تولید کاتالاز قلیایی در محیط کشت‌های اقتصادی معرفی شود.

منابع

Amorim, A.M., Gasques, M.G., Andreaus, J. and Scharf, M. (2002) The application of catalase for the elimination of hydrogen peroxide residues after bleaching of cotton fabric. Annals of the Brazilian Academy of Sciences, 74: 433-436.

Aruldoss, V. and Kalaichelvan, P.T. (2014) Production of catalase by solid state fermentation using different agro and fruit peel wastes as substrates. Journal of Modern Biotechnology, 3: 8 – 13.

Asgarani, E., Soudi, M.R., Borzooee, F. and Dabbagh, R. (2012) Radio- resistance in psychrotrophic Kocuri asp. ASB 107 isolated from Ab-e-Siah radioactive spring. Journal of Environmental Radioactivity, 113: 171-176.

Capua, CD., Bortolotti, A., Far´ıas, M. and Cortez, N. (2011) UV-resistant Acinetobacter sp. isolates from Andeanwet lands display high catalase activity. FEMS Microbiology Letters, 317: 181-189.

Dehghan, M., Moosavi-Nejad, Z., Gharavi, S. and Fooladi, J. (2013) Cane molasses as asource of precursors in the bioproduction of tryptophan by Bacillus subtilis. Irainian Journal of Microbiology, 5: 285-292.

Hua, Z., Yan, G., Du, G. and Chen, J. (2007) Study and improvement of the conditions for production of a novel alkali stable catalase. Biotechnology Journal, 2: 326–333.

Rochat, T., Gratadoux, J., Gruss, A., Corthier, G., Maguin, E., Langella, P. and Guchte, M. (2006) Production of a heterologous nonheme catalase by Lactobacillus casei: an efficient tool for removal of H2O2 and protection of Lactobacillus bulgaricusfrom oxidative stress in milk. Applied and Environmental Microbiology, 72:5143.

Savvides, A.L., Katsifas, E.A., Hatzinikolaou, D., Karagouni, D.A. (2012) Xanthan production by Xanthomonas campestris using whey permeate medium. World Journal of Microbiology and Biotechnology, 28:2759–2764.

Schultz, D. and Kishony, R. (2013) Optimization and control in bacterial Lag phase. BMC Biology, 11: 120.

Shi, X., Feng, M., Zhao, Y., Guo, X. and Zhou, P. (2008) Overexpression, purification and characterization of a recombinant secretary catalase from Bacillus subtilis. Biotechnology Letters, 30:181–186.

Shikha, R., Sharan, A. and Darmwal, N. (2007) Improved production of alkaline protease from a mutant of alkalophilic Bacillus pantotheneticus using molasses as a substrate. Bioresource Technology, 98: 881-885.

Silva, M., Fornari, R.C. and Mazutti, M.A. (2009) Production and characterization of xantham gum by Xanthomonas campestris using cheese whey as sole carbon source. Journal of Food and Engineering, 90: 119-123.

Soung, N.K. and Lee, Y.N. (2000) Iso-catalase Profiles of Deinococcus spp. Journal of Biochemistry and Molecular Biology, 33: 412- 416.

Xiao, Z.J., Liu, J.Y. and Qin, P. (2007) Statistical optimization of medium components for enhanced acetoin production from molasses and soybean meal hydrolysate. Applied Microbiology and Biotechnology, 74: 61-68.

Zeng, H.W., Cai, Y.J., Liao, X.R., Qian, S.L., Zhang, F. and Zhang, D.B. (2010) Optimization of catalase production and purification and characterization of a novel cold-adapted Cat-2 from mesophilic bacterium Serratia marcescens SYBC-01. Annals of Microbiology, 60:701–708.

www.SID.ir

Archive of SID

Zeng, H.W., Cai, Y.J., Liao, X.R., Zhang, F., Li, Y.L., Zeng, X.K. and Zhang, D.B. (2011) Serratia marcescens SYBC08 catalase isolated from sludge containing hydrogen peroxide shows increased catalase production by regulation of carbon metabolism. Engineering in Life Sciences, 11: 37–43.

www.SID.ir

Archive of SID

Optimization of growth and catalase production in *Kocuria* sp. ASB 107 in economic medium

E.Asgarani[1*], E. Godini[2], J.Fooladi[3]

Received: 2015.5.11
Accepted:2016.9.26

Abstract

Catalase is an enzyme capable of catalyzing the alteration of H_2O_2 to O_2 and H_2O. It has acquired importance due to its application in the textile industries. In the textile industry, H_2O_2 is used as a bleach. This process is performed at high pH. Therefore, alkaline catalase is very suitable for H_2O_2 reduction. *Kocuria* ASB107 has a lot of alkaline catalase. In order to achieve the highest rate of bacterial growth and catalase production, sugar cane molasses, sugar beet molasses and whey were used as cheap carbon sources. Growth curves were plotted and at the late logarithmic phase, fermentation product was harvested. Catalase activity was measured spectrophotometrically by monitoring the decrease in absorbance at 240 nm affected by the decomposition of hydrogen peroxide. Bacterial growth was also estimated from the weight of dry biomass. The highest biomass (5.19 g/L) and catalase activity (2136.25 U/mL) were found in medium consisted 1% molasses and 2.5 % yeast extract. In addition with the 4% whey as a carbon source, catalase activity and growth were 3032.5 U/mL and 6.16 g/L respectively. The results showed molasses and whey are suitable and inexpensive substrate. On the other hand inorganic nitrogen sources such as urea are not suitable for the production of catalase and cell growth.

Key words: Catalase, *Kocuria* ASB107, Molasses, Optimization, Whey

1-Associate Professor of Biotechnology department, Faculty of biological Sciences, Alzahra University, Tehran 2-M.Sc in microbiology, Faculty of biological Sciences, Alzahra University, Tehran 3-Assistant Professor of Biotechnology department, Faculty of biological Sciences, Alzahra University, Tehran

∗ (Corresponding author:. asgarani@gmail.com)

www.SID.ir