

ПРОДУЦЕНТЫ, БИОЛОГИЯ,
СЕЛЕКЦИЯ, ГЕНЕТИЧЕСКАЯ ИНЖЕНЕРИЯ

УДК 579.695:628.473.24

ИЗУЧЕНИЕ ЛИПОЛИТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ И СПОСОБНОСТИ
К БИОКОНВЕРСИИ ЖИРОМАССЫ У МИКРОМИЦЕТОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ
ИЗ ЖИРОСОДЕРЖАЩИХ ОТХОДОВ ПИЩЕВОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ

© 2022 г. Л. Б. Глухова^{1, 2}, Д. А. Ивасенко^{1, 2}, Ю. А. Франк^{1, 2}, А. Л. Герасимчук^{1, *}

¹Томский государственный университет, Томск, 634050 Россия

²ООО “Дарвин”, Томск, 634040 Россия

*e-mail: gerasimchuk_ann@mail.ru

Поступила в редакцию 24.06.2022 г.

После доработки 25.07.2022 г.

Принята к публикации 25.08.2022 г.

Исследованы способные к гидролизу жиров штаммы микромицетов, выделенные из твердых жировых отходов животноводческого предприятия и коллекционные штаммы. На основании молекулярного анализа фрагментов генов ITS и 18S рРНК полученные изоляты отнесены к родам *Galactomyces*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor* и *Rhizopus*. Максимальная липолитическая активность, определенная методом Ота-Ямада, была отмечена у *Galactomyces* sp. БШБ1 и *Rhizopus* sp. М и составила 25 мкмоль/(ч мл) и 27.5 мкмоль/(ч мл), соответственно. Диапазоны значений температур и рН, при которых наблюдали активность изучаемых ферментов, составили 15–25°C и рН 4.0–8.0 соответственно. В эксперименте по разложению жиродержащих отходов с использованием штаммов *Galactomyces* sp. БШБ1, *Penicillium* sp. СС, *P.candidum*, *P. roqueforti* и *Rhizopus* sp. М. наиболее эффективными были изоляты *P. roqueforti*, *Penicillium* sp. СС и *Rhizopus* sp. М, которые практически полностью утилизировали куски жиромассы в обеих тестируемых формулах жиро-торфяной смеси (доля вносимой жиромассы составляла 39%). Эти штаммы микромицетов являются перспективными для разработки новых биопрепаратов, используемых для биоконверсии жиродержащих отходов пищевой промышленности и их применения в промышленных биотехнологиях.

Ключевые слова: микромицеты, *Galactomyces*, *Penicillium*, *Rhizopus*, липолитическая активность, деградация жиров

DOI: 10.56304/S0234275822050064

Сточные воды пищевых промышленных предприятий часто содержат сгустки молочных или насыщенных животных жиров [1]. Жиродержащие сточные воды, попадающие в окружающую среду без надлежащей очистки, могут вызывать серьезные экологические проблемы или загрязнения, подобные нефтяным разливам, из-за своих общих физических свойств, например, адгезии. Изучение биологического разнообразия жиродержащих сточных вод и их ремедиация часто акцентируется на бактериальном сообществе [2]. Привлекательность микромицетов заключается в том, что они не только преобразуют органическое вещество сточных вод в ценный белок и биохимические вещества, но также образуют легко обезвоживаемую мицелиальную массу, которую можно использовать в качестве кормовой добавки [3]. Помимо липолитических, микромицеты могут секретировать широкий спектр других ферментов, которые могут расщеплять сложные органические соединения [4]. Многие из этих ферментов являются индуцибельными. Целью данного исследо-

вания стал поиск перспективных штаммов микромицетов для биоконверсии жиродержащих отходов пищевой промышленности и их применения в промышленных биотехнологиях.

УСЛОВИЯ ЭКСПЕРИМЕНТА

Места отбора проб

Образцы были отобраны из пруда-накопителя промышленных отходов и очистных сооружений вблизи г. Томска (рис. 1). Элементный анализ жидких фракций образцов выполнен в химико-аналитическом центре “Плазма” (г. Томск). Определение состава жирных кислот проведено в научном центре “Черкизово” (г. Москва).

Выделение и культивирование микромицетов

Для получения накопительных и чистых культур микромицетов использовали метод последовательных пересевов на модифицированные безугле-



Рис. 1. Места отбора проб. *a* – пруд-накопитель промышленных отходов с жировыми корками на поверхности, *b* – место сброса сточных вод в накопительный пруд, *c* – очистные сооружения, содержащие жидкие стоки с твердыми жировыми корками на поверхности.

Fig. 1. Sampling locations. *a*— storage pond for industrial waste with fatty crusts on the surface, *b*—place of wastewater discharge into the storage pond, *c*—treatment facilities containing liquid effluents with solid fatty crusts on the surface.

водные среды Эшби [5] и дрожжевой агар Чапека [6] с добавлением в качестве источника углерода свиного жира в конечной концентрации 2%. Для подавления роста нежелательных микроорганизмов использовали хлорамфеникол (100 мг/л) и канамицин (100 мг/л).

Изучение роста микромицетов при разных значениях pH проводили на цитратном (pH 2.0–5.0), фосфатном (pH 6.0–8.0) и карбонатном (pH 9.0–11.0) минеральных буферах с добавлением (г/л) пептона – 5.0, дрожжевого экстракта – 3.0, жиромассы – 20.0 и агара – 15.0.

Идентификация микромицетов

Идентификацию микромицетов проводили молекулярными методами на основании гомологии 18S рРНК, региона ITS и кальмодулина. ДНК выделяли по методу, описанному ранее [7]. Частичные последовательности генов 18S рРНК, ITS и кальмодулина были амплифицированы с ранее разработанными праймерами [6, 8, 9] (табл. S1, дополнительный материал). Смесь для ПЦР готовили согласно описанию к Taq-полимеразе (#1959.0500, “Диаэм”, Россия). Секвенирование полученных продуктов реакции выполнено в

компании “Синтол” (г. Москва). Последовательности анализировали с помощью программы UGENE (<http://ugene.net/ru/>) и инструмента BLAST GenBank (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Филогенетические деревья строили в программе MEGA X (<https://www.megasoftware.net/>). Полученные последовательности депонированы в базу данных NCBI под номерами: ITS ON797310-ON797319, 18S рРНК – ON797323-ON797326.

Определение липолитической активности микромицетов

Качественную идентификацию липолитической активности выделенных микромицетов выполняли по методике, основанной на использовании сульфата меди [10]. В чашках, где медь связывалась с остатками жирных кислот, поверхность среды окрашивалась в зеленовато-синий цвет, что свидетельствовало о наличии липолитической активности.

Количественное определение липолитической активности проводили по методу Ота-Ямада [11]. В качестве субстрата использовали оливковое масло и за единицу ферментативной активности принимали такое количество фермента, которое осво-

бождает 1 мкмоль олеиновой кислоты из 40%-ной эмульсии оливкового масла при pH 7.0 и 37°C в течение 1 ч. Липолитическая активность сырого экстракта подсчитывалась, как описано ранее [12].

Модельный эксперимент по переработке жиромассы в жиро-торфяной смеси

Модельный эксперимент по изучению разложения жиромассы проводили в условиях, близких к реальным. Для улучшения аэрирующих свойств жиромассы использовали два варианта смеси: Формула 1 (Ф1) – торф : жиромасса : азофоска 60 : 39 : 1, вода 1.2 части от общего сухого веса; Формула 2 (Ф2) – торф : опилки : жиромасса : азофоска 50 : 10 : 39 : 1, вода 1 часть от общего веса.

В контейнер объемом 80 мл помещали 35 г жиро-торфяной смеси, из которых 9 г составляла жиромасса и автоклавировали при 111°C в течение 20 мин. Инокулят получали, собирая споры с поверхности чашек Петри со спороносящими культурами 0.01%-ным водным раствором TWEEN20. Жиро-торфяную смесь в контейнерах обрабатывали 8 мл раствора спор с концентрацией 1.1×10^6 спор/мл и инкубировали при комнатной температуре (25–26°C) в течение 1.5 мес. Фиксировали скорость обрастания субстрата и морфологические изменения.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Физико-химические показатели мест отбора проб

Физико-химические показатели пруда-накопителя и очистных сооружений указаны в табл. S2 (дополнительный материал). При анализе образцов на присутствие 37 жирных кислот (определена массовая доля метилового эфира каждой жирной кислоты) установлено значительное содержание пальмитиновой, стеариновой, миристиновой и олеиновой жирных кислот (табл. S3, дополнительный материал). Обнаруженный жирнокислотный состав соответствует качественному и количественному составу жирных кислот молока и молочных продуктов [13].

Поиск, выделение и идентификация микромицетов с липолитической активностью

На первом этапе выделенные из твердой жировой фракции микромицеты были исследованы с помощью качественной реакции на липолитическую активность (рис. 2). Микромицеты БШБ1, Б1, Ж2, ЖЭ, SyntG, SyntA1, SyntD, LiP, Brown, HB и M, проявившие липолитическую активность, идентифицировали по универсальному молекулярному маркеру ITS. Большинство штаммов относились к роду *Geotrichum*, два изолята принадлежали роду *Aspergillus* и по одному изоляту отнесено к родам

Rhizopus и *Mucor* (рис. 3). Для некоторых изолятов дополнительно были определены частичные последовательности гена 18S рРНК и кальмодулина (табл. S4, дополнительный материал). Согласно полученным результатам изоляты SyntA1, LiP и Brown могут относиться к эффективному оппортунистическим патогенам, вызывающим тяжелые легочные заболевания, и поэтому указанные изоляты были исключены из дальнейших исследований.

Для дальнейшего изучения активности липаз были отобраны штаммы *Geotrichum* sp. БШБ1 и *Rhizopus* sp. M, а также штаммы, имеющиеся в коллекции лаборатории – *Penicillium candidum*, *P. roquefortii* и *P. commune* штамм СС, используемые в молочной промышленности.

Определение липолитической активности

Максимальная активность липаз (25 мкмоль/(ч мл)) в первые сутки культивирования юбла обнаружена у *Geotrichum* sp. БШБ1 (рис. 4), что согласуется с литературными данными по выявлению максимальной липолитической активности в первые 30 ч культивирования у родственных представителей дрожжей [14]. У плесневых грибов пики активности липаз могут сдвигаться на 3–5 сутки, в зависимости от вида [15]. Для изолята *Rhizopus* sp. M наибольшая активность экзогенных липаз (27.5 мкмоль/(ч мл)) отмечена на четвертые сутки роста.

Также были определены основные показатели роста (рис. 5) и продукция липолитических ферментов (рис. S1, дополнительный материал) в зависимости от pH. Все изученные штаммы росли в диапазоне значений pH 3–10. При внесении в питательную среду сахарозы как дополнительного легкоусвояемого источника углерода отмечали ферментативную активность при pH 5–9 (данные не показаны), а при отсутствии дополнительных сахаров уже при значениях pH 4 (рис. S1, дополнительный материал), у *Rhizopus* sp. M с pH 3 до 9. Максимальная продукция ферментов у *Geotrichum* sp. БШБ1, *P. roquefortii* и *Rhizopus* sp. M. наблюдалась в диапазоне значений pH от 5 до 8, включительно.

При изучении восприимчивости изолятов к температуре установлено, что скорость роста значительно снижается при температурах 4 и 37°C (рис. 6). Оптимум роста для всех исследованных изолятов составил 25°C, для представителей *Penicillium* 15–25°C (рис. 6a). Активность экзогенных липолитических ферментов отмечена в диапазоне 15–25°C, с максимумом при 25°C (рис. 6b). Таким образом, для работы липолитических ферментов, продуцируемых изученными штаммами микромицетов, необходимы температура 15–25°C и pH окружающей среды от 4 до 8.

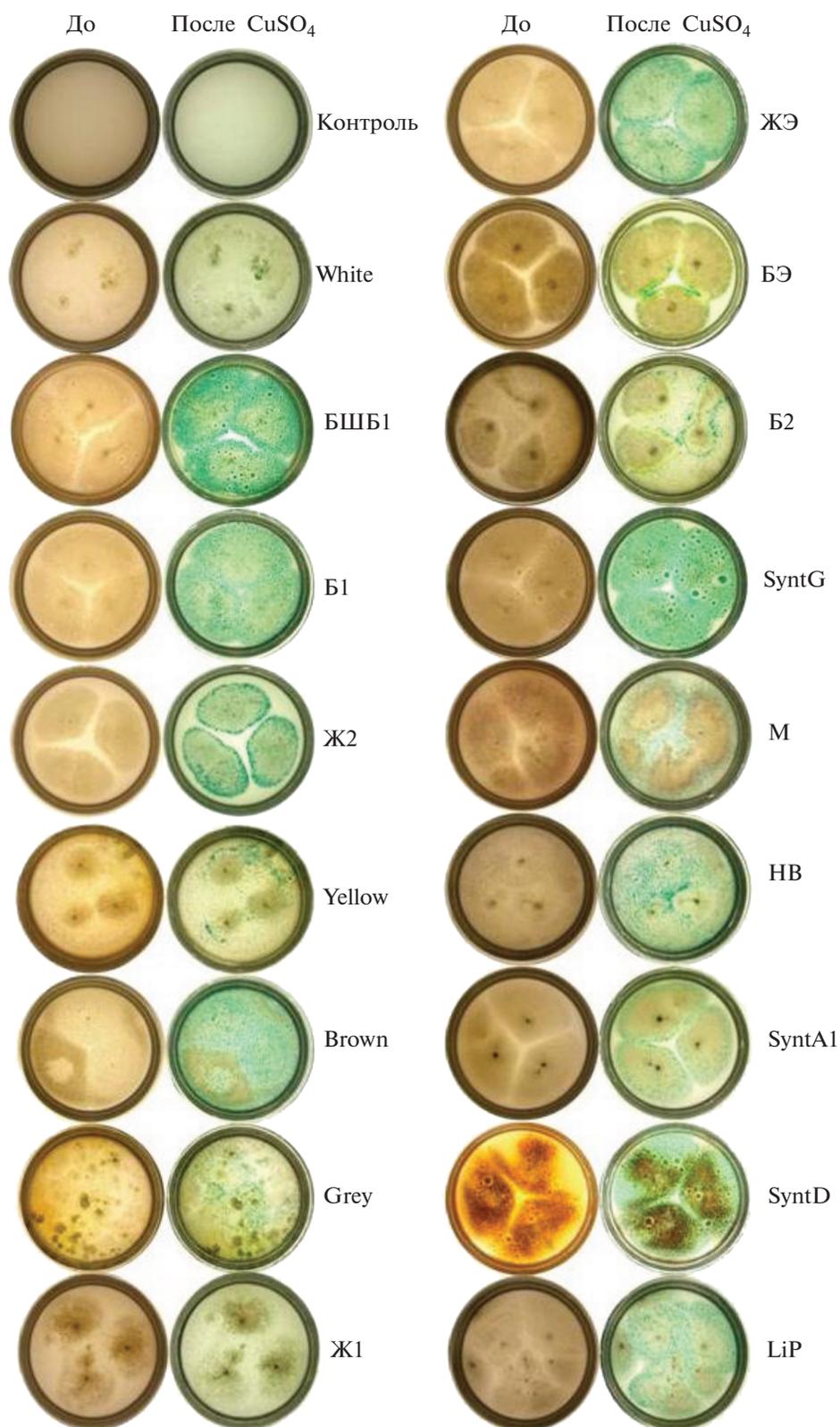


Рис. 2. Качественная реакция на наличие липолитической активности в полученных чистых культурах микромицетов. Наличие синей окраски указывает на активность липазы. Контроль – питательная среда Эшби с топленым жиром (2%) без микромицетов. 10 сут культивирования.

Fig. 2. Qualitative reaction to the presence of lipolytic activity in the obtained pure cultures of micromycetes. The presence of a blue color indicates of lipase activity. Control—Ashby nutrient medium with melted fat (2%) without micromycetes. 10 days of cultivation.

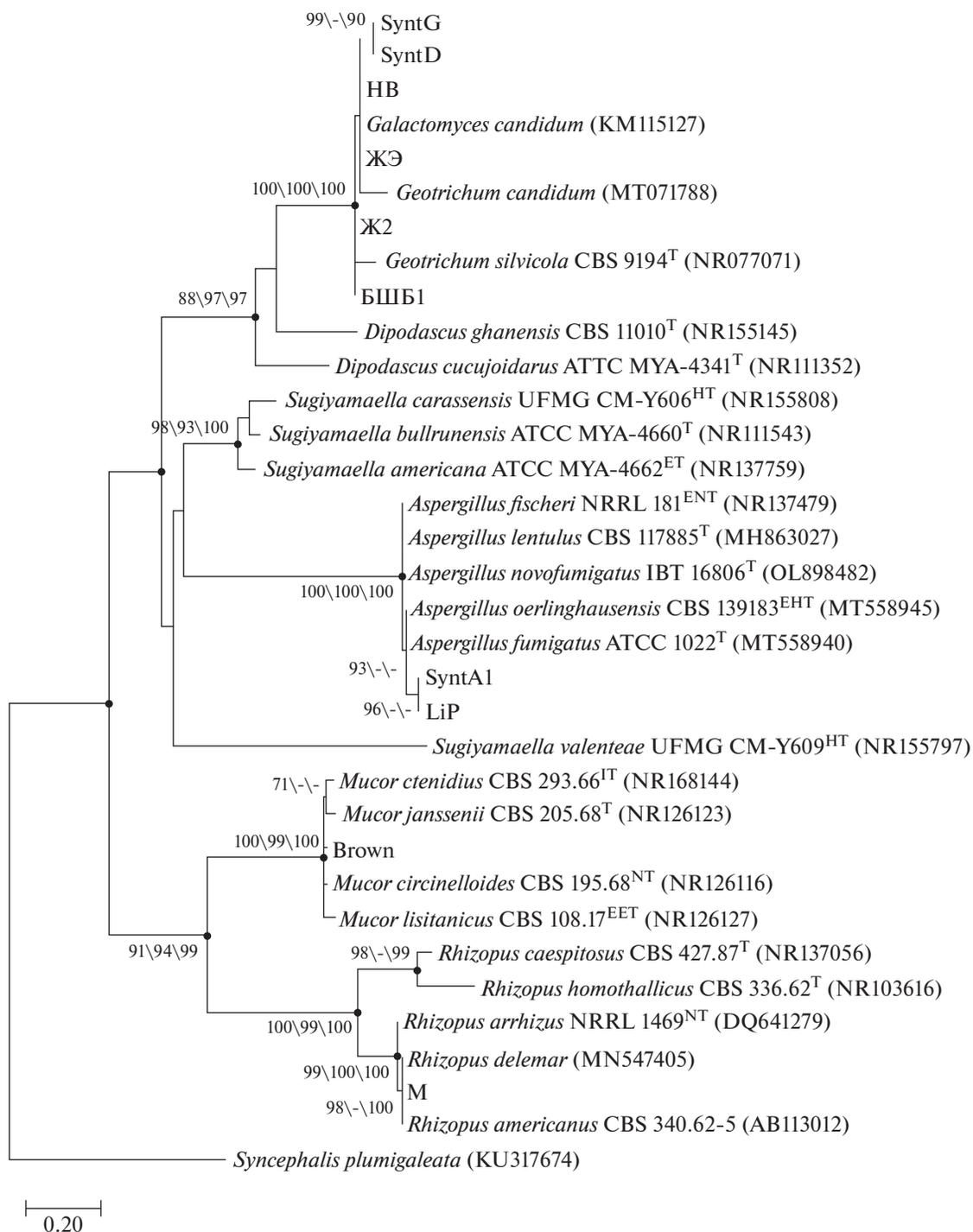


Рис. 3. Филогенетическое дерево на основе региона ITS, показывающее положение изолятов с наиболее близкими видами. Дерево построено методом максимального подобия (ML), цифры в узлах показывают статистические значения bootstrap 1000 повторностей ML/NJ/MP (значения менее 70 не показаны или обозначены прочерком). Точки в узлах указывают на совпадение расположения ветвей во всех трех ML/NJ/MP вариантах. Дерево укоренено на *Syncephalis plumigaleata* (KU317674). Сокращения на дереве: T – Type, ET – Ex-type, HT – Holotype, NT – Neotype, IT – Isotype, ENT – Ex-neotype, EHT – Ex-holotype, EET – Ex-epitype.

Fig. 3. Phylogenetic tree based on the ITS region showing the position of isolates with the most closely related species. The tree was built using the maximum similarity (ML) method, the numbers in the nodes show the statistical values of bootstrap 1000 ML/NJ/MP replicates (values less than 70 are not shown or indicated by a dash). The dots at the nodes indicate the coincidence of the location of the branches in all three ML/NJ/MP variants. The tree is rooted on *Syncephalis plumigaleata* (KU317674). Abbreviations on the tree: T—Type, ET—Ex-type, HT—Holotype, NT—Neotype, IT—Isotype, ENT—Ex-neotype, EHT—Ex-holotype, EET—Ex-epitype.

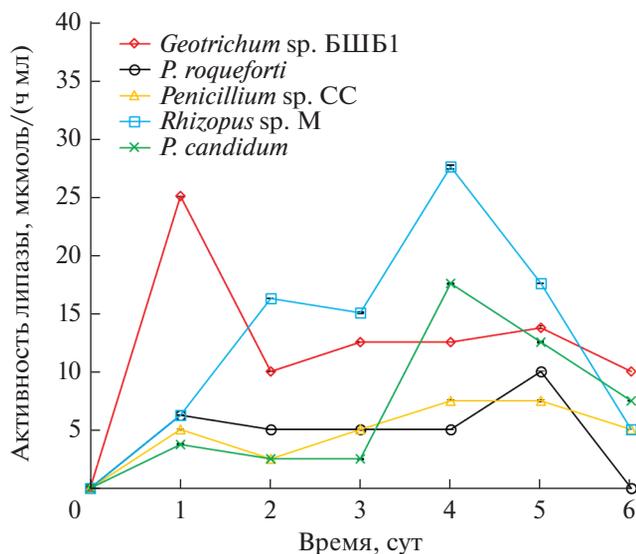


Рис. 4. Активность экзогенных липаз исследуемых штаммов микромицетов. Планки погрешности показывают стандартную ошибку ($n = 3$).

Fig. 4. Activity of exogenous lipases of the studied strains of micromycetes. Error bars show standard error ($n = 3$).

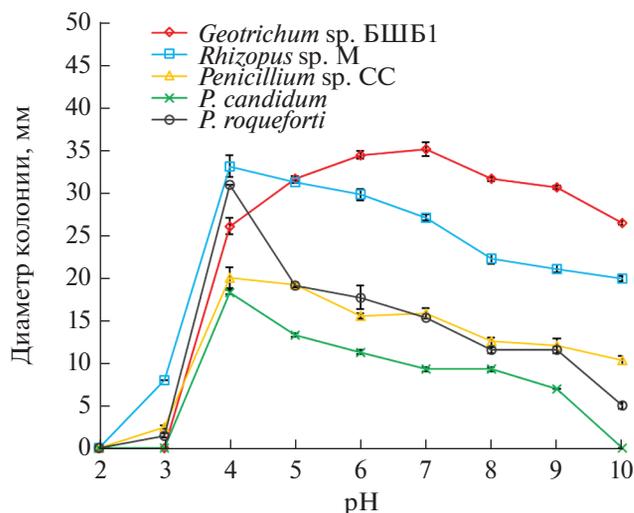


Рис. 5. Рост микромицетов при значениях pH от 2 до 10 (показания сняты на 6 сутки). Планки погрешности показывают стандартную ошибку ($n = 6$).

Fig. 5. The growth of micromycetes at pH values from 2 to 10 (readings were taken on the 6th day). Error bars show standard error ($n = 6$).

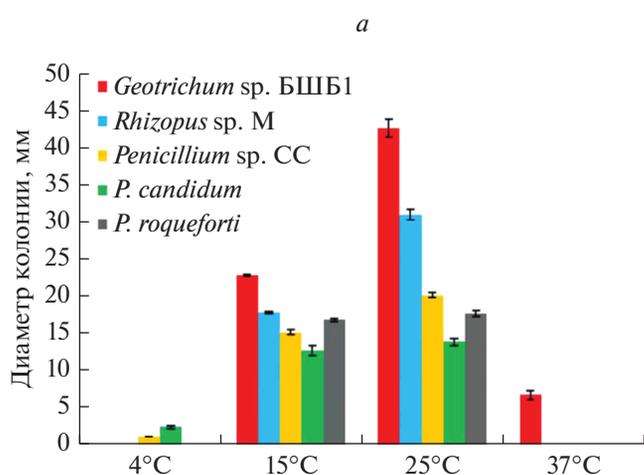
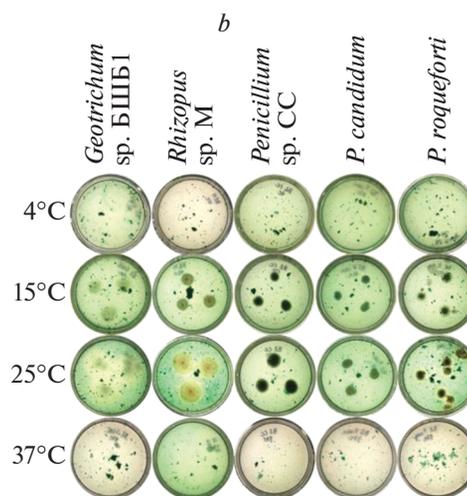


Рис. 6. Влияние температуры на рост микромицетов (a) и липолитическую активность (b) после 6 сут культивирования. Планки погрешности на графике показывают стандартную ошибку ($n = 6$).

Fig. 6. Effect of temperature on the growth of micromycetes (a) and lipolytic activity (b). The error bars on the graph show the standard error ($n = 6$). Data were taken on the 7th day.

Модельный эксперимент по переработке жиромассы в жиро-торфяной смеси

Трудность в переработке твердых жиров заключается в дефиците питательных веществ, а именно низком содержании азота и фосфора по сравнению с избытком углерода [16]. Для компенсации этого дисбаланса предполагается использование ко-субстрата для выравнивания отношения C/N в исходной смеси. Вода и кислород



также влияют на биологическую активность инокулята [17], и напрямую связаны с общей пористостью компостируемого материала. На основе анализа опубликованных исследований [18, 19] в качестве основного компонента для улучшения пористости был выбран торф (растительные остатки) и хвойные опилки. Для компенсации избытка углерода к смеси добавляли минеральное удобрение – азофоску. Результаты культивирования при температуре $25 \pm 3^\circ\text{C}$ показаны в табл. 1 и на рис. 7.

Таблица 1. Описание физических изменений, происходящих в жиро-торфяной смеси на 34 сутки культивирования при 25°C

Table 1. Description of the physical changes occurring in the fat-peat mixture on the 34th day of cultivation at 25°C

Культура	Ф1	Ф2
Контроль	Сильный запах прогорклого жира. Торфяная смесь – жирная. Обрастания нет	Присутствует резкий, неприятный запах изначальной жиромассы. Торфяная смесь – жирная. Обрастания нет
<i>Penicillium</i> sp. СС	Присутствует запах торфяной смеси с резким ароматом плесени. Ярко выражено спороношение культуры. Торфяная смесь – слабо жирная. Обрастание – 100%	Запах торфяной смеси без резкого аромата плесени. Мицелий белый, местами зеленый. Торфяная смесь – слабо жирная. Обрастание – 75%
<i>Geotrichum</i> sp. БШБ1	Запах торфяной смеси без резкого аромата плесени. Торфяная смесь – жирная. Обрастание – 90%	Присутствует резкий, неприятный запах изначальной жиромассы. Торфяная смесь – жирная. Обрастание – 65%
<i>Penicillium candidum</i>	Запах землисто-торфяной смеси без резкого аромата плесени. Торфяная смесь – не жирная. Обрастание – 100%	Запах землисто-торфяной смеси без резкого аромата плесени. Торфяная смесь – не жирная. Обрастание – 100%
<i>Penicillium roqueforti</i>	Запах землисто-торфяной смеси без резкого аромата плесени. Торфяная смесь – не жирная. Обрастание – 100%	Запах землисто-торфяной смеси без резкого аромата плесени. Торфяная смесь – не жирная. Обрастание – 80%
<i>Rhizopus</i> sp. М	Запах землисто-торфяной смеси без резкого аромата плесени. Торфяная смесь – не жирная. Обрастание – 100%	Запах землисто-торфяной смеси без резкого аромата плесени. Торфяная смесь – не жирная. Обрастание – 95%

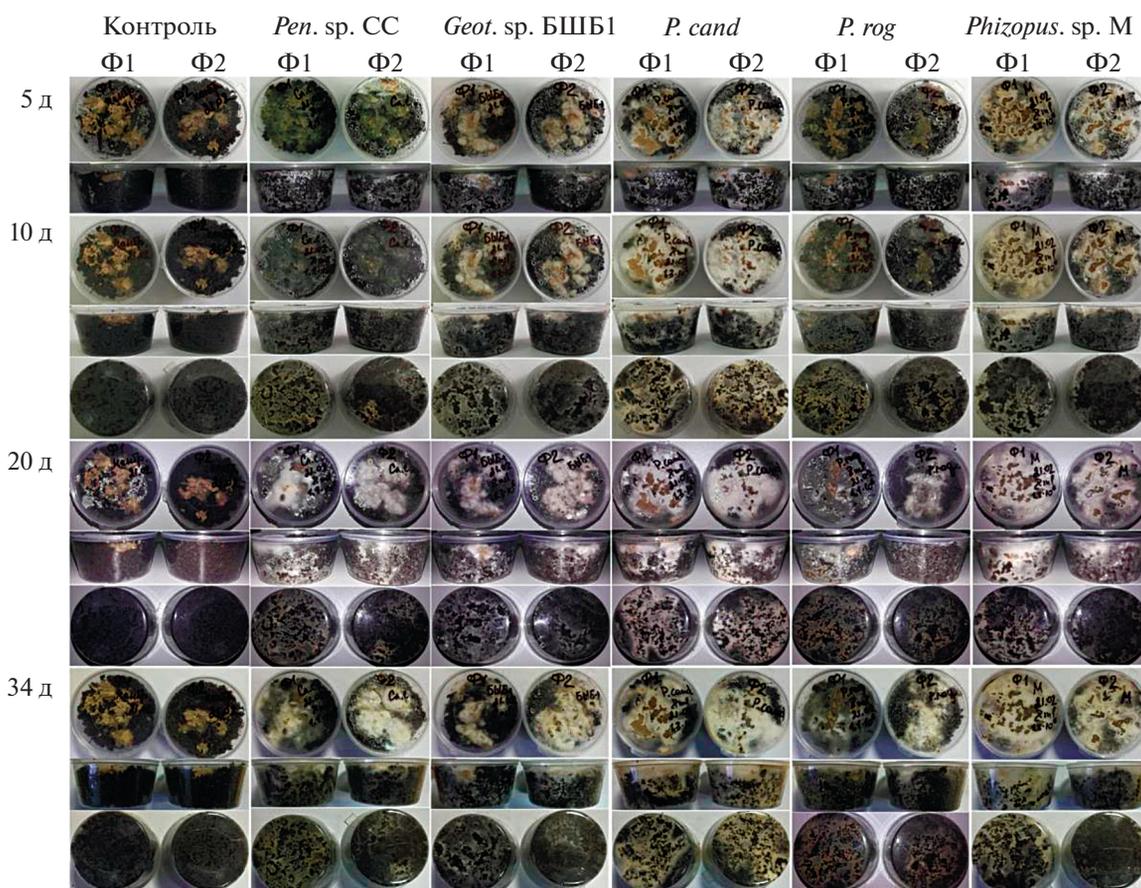


Рис. 7. Обрастание жиро-торфяной смеси микромицетами в процессе инкубирования при 25°C через 20 сут культивирования. На фото изображены: вид сверху, сбоку и дно контейнера.

Fig. 7. Fouling of fat-peat mixture with micromycetes during incubation at 25°C after 20 days of cultivation. The photo shows: top, side and bottom view of the container.

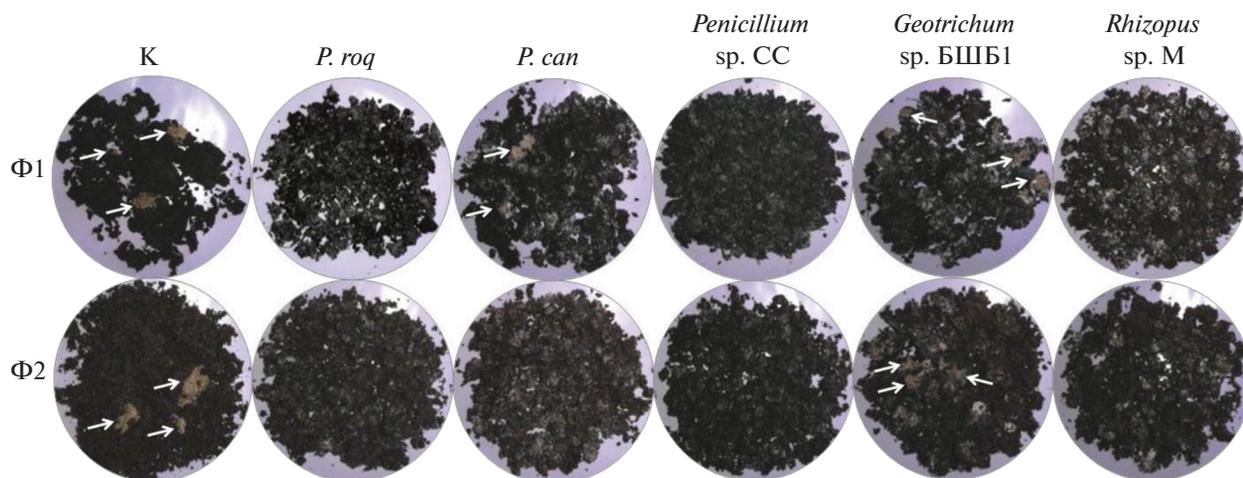


Рис. 8. Жиро-торфяная смесь после инкубации с микромицетами в течение 34 сут при 25°C. Белыми стрелками отмечены неразложившиеся кусочки жиромассы. К — контроль без микромицетов. Верхний ряд Ф1, нижний — Ф2.
Fig. 8. Fat-peat mixture after incubation for 34 days at 25°C with micromycetes. White arrows indicate undecomposed pieces of fat mass. К—control without micromycetes. F1 and F2—formulas of peat-fat mixture No. 1 and No. 2, respectively.

На 5 сутки культивирования в Ф1 обрастание жиро-торфяной массы достигало 80%, в то время как в Ф2 — 50–60% в зависимости от штамма. Предположительно, это связано с использованием опилок хвойных пород деревьев, содержащих смолы, которые могут ингибировать рост некоторых микромицетов. В Ф1 обрастание жиромассы достигало 100% уже на 10 сутки культивирования, также наблюдалось активное спороношение культур и в дальнейшем развивался вторичный рост мицелия (рис. 7).

По окончании инкубационного периода отмечено, что культуры *P. roqueforti*, *Penicillium* sp. СС и *Rhizopus* sp. М в наибольшей степени разлагают жиромассу, по сравнению с контролем, *P. candidum* и *Geotrichum* sp. БШБ1 (рис. 8).

Таким образом, среди всех исследованных изолятов, микромицеты *P. roqueforti*, *Penicillium* sp. СС и *Rhizopus* sp. М практически полностью утилизировали куски жиромассы в обеих тестируемых формулах жиро-торфяной смеси. Эти штаммы микромицетов являются перспективными для разработки новых биопрепаратов, используемых для биоконверсии жиросодержащих отходов пищевой промышленности и их применения в промышленных биотехнологиях.

ФИНАНСИРОВАНИЕ

Исследование выполнено при поддержке Программы развития Томского государственного университета (Приоритет-2030).

ДОПОЛНИТЕЛЬНЫЙ МАТЕРИАЛ

Онлайн-версия содержит дополнительные материалы, доступные по адресу DOI: 10.56304/S0234275822050064.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. He X., de los Reyes III F.L., Ducoste J.J. A critical review of fat, oil and grease (FOG) in sewer collection systems: challenges and control. *Crit. Rev. Environ. Sci. Technol.*, 2017, 47(13), 1191–1217. <https://doi.org/10.1080/10643389.2017.1382282>
2. Chipasa K.B., Mędrzycka K. Behavior of lipids in biological wastewater treatment processes. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.*, 2006, 33(8), 635–645. <https://doi.org/10.1007/s10295-006-0099-y>
3. Guest R.K., Smith D.W. A potential new role for fungi in a wastewater MBR biological nitrogen reduction system. *J. Environ. Eng. Sci.*, 2002, 1, 433–437. <https://doi.org/10.1139/s02-037>
4. Sanghamitra P., Mazumdera D., Mukherjee S. Treatment of wastewater containing oil and grease by biological method. *J. Environ. Sci. Health, Part A*. 2021, 56(4), 394–412. <https://doi.org/10.1080/10934529.2021.1884468>
5. Jorgensen J.H., Pfaller M.A., Carroll K.C., Funke G., Landry M.L., Richter S.S., and Warnock. D.W. *Manual of Clinical Microbiology*, 11th Edition, Washington: American Society for Microbiology Press, 2015, 1, 2630.
6. Visagie C.M., Houbraken J., Frisvad J.C., Hong S.-B., Klaassen C.H.W., Perrone G., Seifert K.A., Varga J., Yaguchi T., Samson R.A. Identification and nomenclature of the genus *Penicillium*. *Stud. Mycol.*, 2014, 78, 343–371. <https://doi.org/10.1016/j.simyco.2014.09.001>
7. Moore E., Arnscheidt A., Krüger A., Strömpl C., Mau M. Simplified protocols for the preparation of genomic DNA from bacterial cultures. *Molecular Microbial Ecol-*

- ogy Manual, Supplement 4, Second Edition, Chapter: 1.6.1, Kluwer Academic Publishers, 2004, 3–18.
<https://doi.org/10.1007/978-1-4020-2177-0>
8. *Stoeck T., Taylor G.T., Epstein S.S.* Novel eukaryotes from the permanently anoxic Cariaco basin (Caribbean Sea). *Appl. Environ. Microbiol.*, 2003, 69, 5656–5663.
<https://doi.org/10.1128/AEM.69.9.5656>
 9. *White T.J., Bruns S., Lee S., Taylor J.* Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*. Academic Press, 1990, 315–322.
<https://doi.org/citeulike-article-id:671166>
 10. *Harrigan W.F., McCance M.E.* Laboratory methods in Microbiology, 3rd ed., New York: Academic Press, 1966, 357.
 11. *Демьянцева Е.Ю., Копнина Р.А.* Ферментативный катализ в цпб: учебно-методическое пособие/СПбГТУРП. СПб., 2014, 1–47.
 12. *Никитенко А.И., Леонтьев В.Н., Болтовский В.С.* Методические особенности определения активности липаз в семенах рапса. *Труды БГТУ. Химия, технология органических веществ и биотехнология*, 2011, 4, 190–193.
 13. *Månsson H.L.* Fatty acids in bovine milk fat. *Food Nutr. Res.*, 2008, 52.
<https://doi.org/10.3402/fnr.v52i0.1821>
 14. *Maldonado R.R., Lopes D.B., Aguiar-Oliveira E., Kamimura E.S., Macedo G.A.* A Review on *Geotrichum* lipases: production, purification, immobilization and applications. *Chem. Biochem. Eng. Q.*, 2017, 30, 439–454.
<https://doi.org/10.15255/CABEQ.2016.907>
 15. *Esmaili A., Sadeghi E.* The efficiency of *Penicillium commune* for bioremoval of industrial oil. *Int. J. Environ. Sci. Technol.*, 2014, 11, 1271–1276.
<https://doi.org/10.1007/s13762-014-0523-1>
 16. *Sasaki N., Suehara K.I., Kohda J., Nakano Y., Yang T.* Effects of C/N ratio and pH of raw materials on oil degradation efficiency in a compost fermentation process. *J. Biosci. Bioeng.*, 2003, 96, 47–52.
[https://doi.org/10.1016/S1389-1723\(03\)90095-8](https://doi.org/10.1016/S1389-1723(03)90095-8)
 17. *Malinska K.A., Richard T.L.* The impact of physical properties and compaction on biodegradation kinetics during composting. *Proceedings of 5th International Conference ORBIT 2006*. Weimar, 2006, 125–132.
 18. *Ruggieri L., Artola A., Gea T., Sánchez A.* Biodegradation of animal fats in a co-composting process with wastewater sludge. *Int. Biodeterior. Biodegradation*, 2008, 62, 297–303.
<https://doi.org/10.1016/j.ibiod.2008.02.004>
 19. *Larsen K.L., McCartney D.M.* Effect of C:N ratio on microbial activity and N retention: bench-scale study using pulp and paper biosolids. *Compost Sci. Util.*, 2000, 8, 147–159.
<https://doi.org/10.1080/1065657X.2000.10701760>

Study of Lipolytic Activity and Fat Mass Bioconversion Ability in Micromycetes Isolated from Fat-Containing Food Industry Waste

L. B. Glukhova^{a, b}, D. A. Ivasenko^{a, b}, Yu. A. Frank^{a, b}, and A. L. Gerasimchuk^{a, #}

^aTomsk State University, Tomsk, 634050 Russia

^bDarwin LLC, Tomsk, 634040 Russia

[#]e-mail: gerasimchuk_ann@mail.ru

Abstract—Micromycete strains capable of hydrolyzing fats, isolated from solid fat waste of a livestock enterprise, as well as collection strains have been studied. Based on the molecular analysis of ITS and 18S rRNA gene fragments, the obtained isolates were assigned to the genera *Galactomyces*, *Aspergillus*, *Penicillium*, *Mucor*, and *Rhizopus*. The maximum lipolytic activity according to the Ota–Yamada method, was found in *Galactomyces* sp. BShB1 and *Rhizopus* sp. M and amounted to 25 μmol/(h mL) and 27.5 μmol/(h mL), respectively. The temperature and pH ranges at which the activity of the studied enzymes was observed were 15–25°C and from 4.0 to 8.0, respectively. Among the tested strains of *Galactomyces* sp. BShB1, *P.candidum*, *P. roqueforti*, *Penicillium* sp. CC and *Rhizopus* sp. M, *P. roqueforti*, *Penicillium* sp. CC and *Rhizopus* sp. M were shown to be the most effective isolates that almost completely utilized pieces of fat mass in both used formulas of the peat-fat mixture (with a share of added fat mass of 39%). These fungi are promising for the development of new biopreparations used for the bioconversion of fat-containing food industry wastes and their application in industrial biotechnologies.

Keywords: micromycetes, *Galactomyces*, *Penicillium*, *Rhizopus*, lipolytic activity, fat degradation