

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

عزت عسگرانی<sup>۱\*</sup>، الهام گودینی<sup>۲</sup>، جمشید فولادی<sup>۳</sup>

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 می شود. این فرآیند در pH بالا انجام می شود. 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 کشت های 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 در طول موج ۲۴۰ نانومتر بررسی شد. برای تعیین میزان رشد باکتری از وزن بیوماس خشک استفاده شد. بالاترین فعالیت آنزیم ( $2136/25 U/mL$ ) و رشد باکتریایی ( $5/19 g/L$ ) با استفاده از ملاس چغندر قند (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  $3032/5 U/mL$  و  $6/16 g/L$  مشاهده شد. نتایج پژوهش نشان داد ملاس چغندر قند و آب پنیر سوبستراهای ارزان و مناسبی جهت تولید آنزیم و رشد سلول هستند و منبع نیتروژن غیرآلی اوره مناسب نیست.

**واژه های 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 می گیرند، بنابراین علاوه بر مکانیسم های ترمیم، توانایی تولید آنزیم های آنتی اکسیداتیو نظیر کاتالاز یک فاکتور مهم مقاومت در آن ها محسوب می شود (Rochat et al., 2006). امروزه آنزیم کاتالاز به دلیل

۱- دانشجویار 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

کاربردهای بالقوه‌اش در صنایع مختلف به خصوص صنعت نساجی مورد توجه قرار گرفته است. در این صنعت از  $H_2O_2$  به عنوان 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 فعال تر 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 *et al.*, 2012) و این آنزیم در pH های قلیایی فعال تر 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 ۴-۵ درصد لاکتوز، ۱-۰/۸ درصد پروتئین، و مقادیر کمتری اسیدهای آلی، نمک‌ها و ویتامین‌هاست. دفع آب پنیر به دلیل BOD (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 سوبسترای 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.

## 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 آلدئیدی 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 در ۵۰ میلی لیتر محیط کشت TSB کشت داده شد. سپس در شیکر انکوباتور با دمای ۳۰°C 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<sub>600</sub> 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 به عنوان 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 (0.9 % NaCl) شستشو داده شد. برای تعیین میزان رشد باکتری، زیست توده سلولی در فور ۶۵°C 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

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 بافر فسفات 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  $25^{\circ}C$  و  $pH: 7$ ) به آب و اکسیژن تبدیل می کند تعریف می شود (Zeng et al., 2010).

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

### بهینه سازی منبع نیتروژن

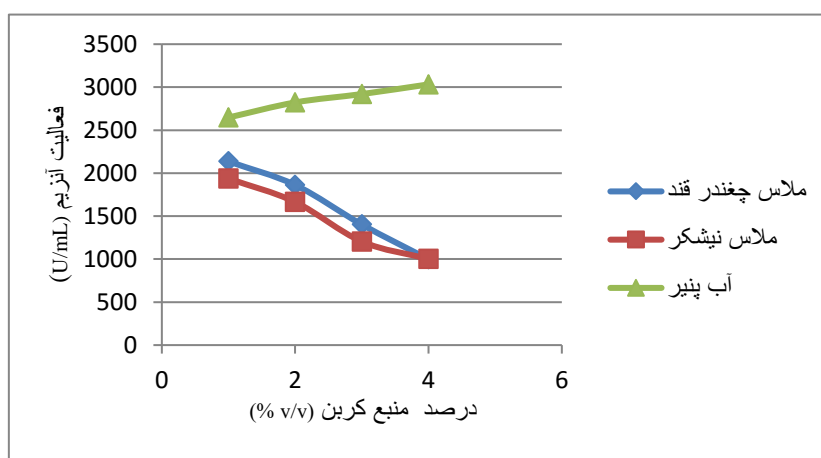
پس از انتخاب میزان بهینه منبع کربن، عصاره مخمر و اوره با گرادیان غلظتی (0.5, 1.5, 2.5, 3.5 % w/v) به عنوان منبع نیتروژن اصلی استفاده و میزان رشد باکتری و فعالیت کاتالازی بررسی گردید.

### تأثیر $H_2O_2$ بر افزایش تولید آنزیم کاتالاز

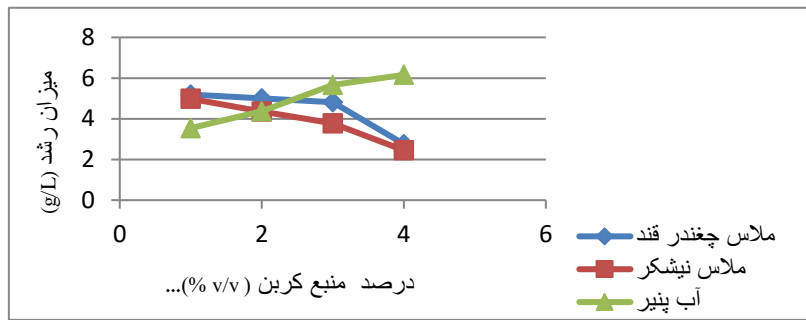
به منظور بررسی تأثیر تنش های اکسیداتیو نظیر  $H_2O_2$  بر افزایش فعالیت آنزیم در اواخر فاز لگاریتمی رشد باکتری،  $H_2O_2$  با رقت های ۵۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۴۰۰ میلی مولار به محیط کشت تلقیح شد و فعالیت کاتالازی با مقدار پایه مقایسه گردید.

### نتایج و بحث

بررسی میزان رشد و فعالیت آنزیمی باکتری در محیط کشت های 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 می آید (شکل ۱ و ۲).



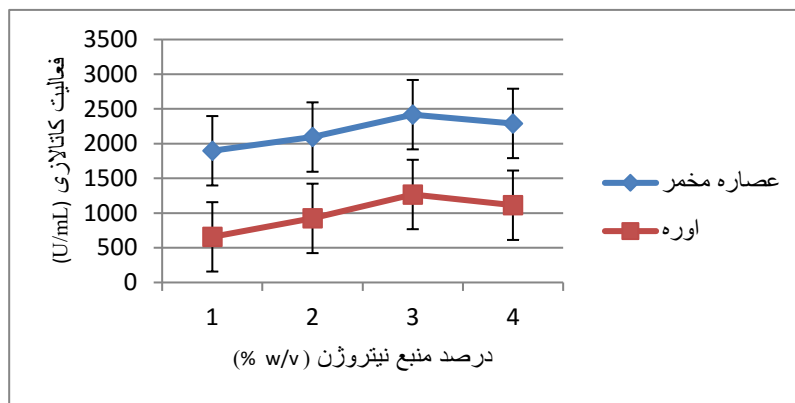
شکل ۱: بررسی فعالیت آنزیمی با استفاده از منابع کربن مختلف



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 می باشد (شکل ۳).

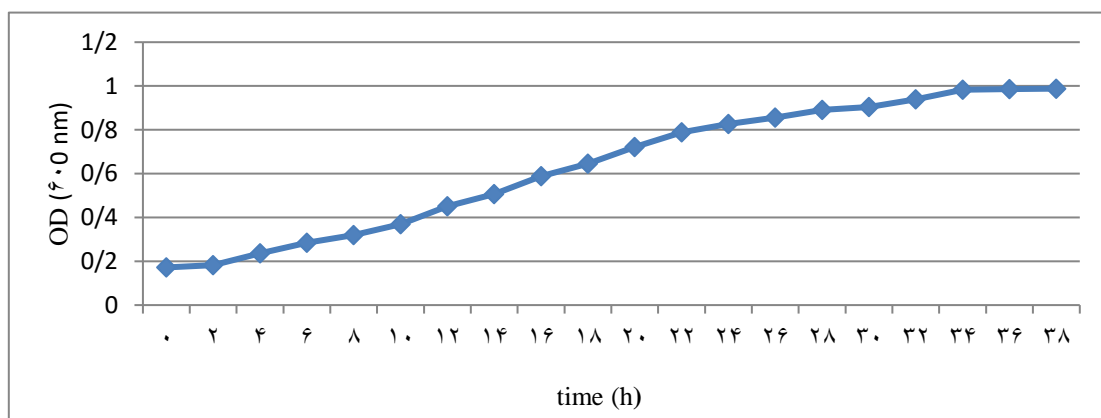


شکل ۳: بررسی میزان رشد باکتری با استفاده از منابع کربن

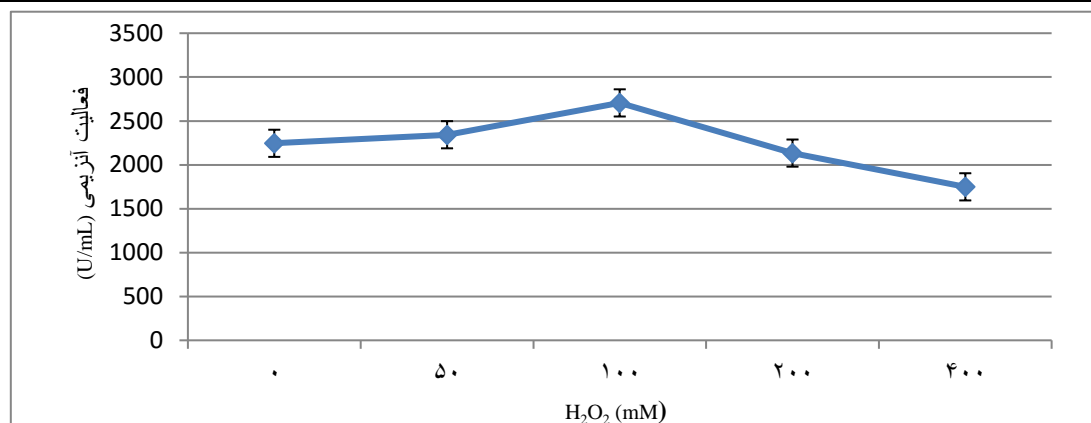
با در نظر گرفتن میزان بهینه منابع کربن و نیتروژن در محیط کشت، با توجه به منحنی رشد باکتری (شکل ۴) در

اواخر فاز لگاریتمی رشد، تحریک فعالیت کاتالازی آنزیم توسط غلظت های متفاوت  $H_2O_2$  انجام شد و نتایج نشان داد که ۱۰۰

میلی مولار  $H_2O_2$  نسبت به سایر غلظت ها به میزان بیشتری فعالیت آنزیمی را تحریک می کند (شکل ۵).



شکل ۴: منحنی رشد باکتری



شکل ۵: تأثیر غلظت‌های متفاوت H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 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 ۱۵۰ دور بر دقیقه دیده می‌شود.

در صنایع نساجی بیش از ۱۰۰ لیتر آب برای پردازش هر یک کیلوگرم پارچه استفاده می‌شود. در مرحله رنگ‌بری H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> به کار برده می‌شود و حذف H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 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<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 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<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 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 ۳۵۰۰ U/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) می‌باشد. 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

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

در پژوهش های بسیاری استفاده از ملاس و آب پنیر به عنوان سوبستراهای ارزان قیمت برای تولید آنزیم ها، 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 به عنوان 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 می شود. البته با این کار رشد سلولی به میزان قابل توجهی کاهش می یابد. از این رو غلظت های کم  $H_2O_2$  جهت تحریک فعالیت آنزیم استفاده می شود (Yan et al., 2007).

$H_2O_2$  یکی از گونه های اکسیژن فعال (ROS) است که با ایجاد رادیکال های هیدروکسیل می تواند آسیب های جدی به بیومولکول ها از جمله لیپیدها، اسیدهای آمینه و اسیدهای نوکلئیک وارد کند. Capua و همکارانش در سال ۲۰۱۱ به بررسی تأثیر غلظت های 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 کشت های باکتری اضافه شد. نتایج نشان داد که بیشترین فعالیت آنزیمی (۲۷۰۴/۱۲۸ U/mL) با ۱۰۰ میلی مولار  $H_2O_2$  مشاهده می شود (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 می شود. و این نشان می دهد که میزان  $H_2O_2$  وارد شده به سلول بیش از توانایی سلول برای تجزیه آن هاست. لذا افزودن  $H_2O_2$  بیش از ۱۰۰ میلی مولار می تواند 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. پژوهش ها نشان داده است که آنزیم تولیدی توسط این باکتری در محیط های قلیایی فعالیت بالایی دارد. چنین آنزیم هایی از نظر صنعتی حائز اهمیت هستند. نتایج

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., Andreus, 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 *Kocuria* sp. ASB 107 isolated from Ab-e-Siah radioactive spring. *Journal of Environmental Radioactivity*, 113: 171-176.
- Capua, CD., Bortolotti, A., Farías, M. and Cortez, N. (2011) UV-resistant *Acinetobacter* sp. isolates from Andean wet 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 a source of precursors in the bioproduction of tryptophan by *Bacillus subtilis*. *Iranian 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 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and protection of *Lactobacillus bulgaricus* from 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 secretory 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 xanthan 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.



---

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.

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

E.Asgarani<sup>1\*</sup>, E. Godini<sup>2</sup>, J.Fooladi<sup>3</sup>

Received: 2015.5.11

Accepted: 2016.9.26

### Abstract

Catalase is an enzyme capable of catalyzing the alteration of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> to O<sub>2</sub> and H<sub>2</sub>O. It has acquired importance due to its application in the textile industries. In the textile industry, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> is used as a bleach. This process is performed at high pH. Therefore, alkaline catalase is very suitable for H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 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 )