

УДК 577.151  
DOI 10.26456/vtchem2026.1.16

## Ферментативная активность липаз насекомых

С.А. Спиридонова, Е.А. Прутенская, М.А. Феофанова

ФГБОУ ВО «Тверской государственный университет», г. Тверь

Липазы, наряду с протеолитическими и пектолитическими ферментами, имеют большое практическое значение. Чаще всего используются ферменты рекомбинантных микроорганизмов, в геном которых встроены гены эукариотических организмов. Поиск продуцентов липаз, способных разрушать сложные воска и фосфолипиды, является многогранной задачей, имеющей множество возможных решений. Крупная восковая моль (*Galleria mellonella*) является многообещающим объектом изучения, поскольку она способна трансформировать пчелиный воск и частично разрушать полимеры, включая хитин. В связи с этим важно изучить свойства и структуру липаз насекомых, особенно светлячков.

**Ключевые слова:** Липазы насекомых, ферментативный катализ, классификация ферментов, промышленное применение ферментов, методы выделения ферментов, определение активности ферментов.

Липазы наряду с протеолитическими, пектолитическими ферментами имеют большое практическое значение. Чаще всего используют ферменты рекомбинантных микроорганизмов, в геном которых встроены гены эукариотических организмов. Поиск продуцентов липаз, способных разрушать сложные воска и фосфолипиды является многосоставной задачей с множеством вариантов решений. Перспективным объектом изучения является большая восковая моль (*Galleria mellonella*), так как она способна трансформировать пчелиный воск, частично разрушать полимеры, в том числе хитин. В связи с этим актуальным является изучение свойств, строение липаз насекомых, в особенности огневки.

Липазы насекомых применяются в разных отраслях промышленности, чаще всего в пищевой промышленности для полного гидролиза жиров. Интересным направлением применения липаз является их использование в производстве биодизеля и разделения хиральных спиртов.

Работы по изучению активности ферментов насекомых противоречивым и часто содержит информацию, которая подлежит более серьезному изучению. Например, фермент церраза. Информация об этом ферменте имеется только в патенте РФ 2038086С1 Способ

получения биологически активного продукта из личинок большой восковой моли [1], либо на сайтах производителей биологически активных добавок.

В связи с этим, использование липаз гусениц связано с рядом проблем, главным образом, недостаточностью данных о ферментативной активности и кинетики протекания реакции. Также, выращивание гусениц трудно и ресурс затратно, очистка готовых ферментных препаратов сложна, а выход невелик. Именно поэтому изучение активности липаз и подбор наиболее подходящего метода очистки может стать толчком к их будущей реализации.

**Цель работы.** В связи с этим цель работы – изучение липаз насекомых, их ферментной активности, биохимических особенностей и наиболее перспективных применений.

**Задачи работы.** Для достижения цели поставлен ряд задач:

1. Охарактеризовать липазы как ферменты.
2. Обозначить основные области их применения.
3. Перечислить источники получения липаз, а также выделить места локализации наибольшего количества липаз в организмах насекомых и животных.
4. Изучить классификацию липаз, основанную на воздействии на субстрат.
5. Обозначить химическое и биохимическое строение липаз.
6. Рассмотреть способы выделения липаз из насекомых, а также методы определения их активности.

Липазы – группа ферментов с гидролитической активностью, входящих в подкласс эстераз. Субстратами для действия липаз могут служить не только глицериды и триглицериды, а также, например, различные эфиры [2, 3].

Самыми популярными использованиями липаз на сегодняшний день являются молочная промышленность для изготовления сыров и хлебопекарная промышленности для улучшения вкусовых свойств готовой продукции. Такой эффект достигается благодаря способности липаз к переэтерификации триглицеридов [4, 5]. Они используются в производстве моющих средств – в сочетании с поверхностно-активными веществами они удаляют застарелые жирные пятна с тканей и других поверхностей [6, 7]. Так же липазы используются при получении биотоплива. Они катализируют переэтерификацию растительных масел и животных жиров, часто для этого используют иммобилизованную липазу для увеличения эффективности. Другие сферы использования липаз приведены в таблице 1 [8, 9].

Таблица 1

## Некоторые области промышленного применения липаз

Промышленная отрасль	Биохимическое действие	Примеры применения
Моющие средства	Гидролиз жиров	Удаление масляных пятен с тканей
Хлебобулочные изделия	Модификация жиров	Продление срока хранения, улучшение органолептических качеств
Напитки	Модификация жиров	Улучшение аромата, осветление соков
Жиры и масла	Перезтерификация, гидролиз	Какао-масло, жирные кислоты, глицерин
Молочные продукты	Гидролиз молочного жира, сыра Созревание	Разработка вкусовых добавок для молока, сыра, сливочного масла
Кожа	Гидролиз	Обезжиривание шкур при обработке кожи и модификации текстиля.
Фармацевтика и тонкая химия	Перезтерификация, гидролиз	Синтез хиральных промежуточных продуктов, производство АФИ (активных фармацевтических ингредиентов), таких как прекурсоры для лекарств от боли/эпилепсии, и создание сложных эфиров.
Косметика и средства личной гигиены	Расщепление жиров	Используются в кремах, лосьонах и парфюмерии для изменения текстуры и в качестве эмульгаторов.
Биоремедиация и защита окружающей среды	Расщепление жиров	Очистка маслянистых сточных вод и ила, расщепление жиров в сточных водах.
Бумага и целлюлоза	Гидролиз жиров	Обеззараживание переработанной бумаги и улучшение дренажа.

Все источники липаз можно разделить по происхождению – различают липазы растительного, животного и микробиологического

происхождения. Наиболее распространены в качестве продуцентов липаз микроорганизмы, однако этот способ получения сопряжен с рядом недостатков, в том числе и не стабильностью генома рекомбинантных микроорганизмов [10].

В сравнении с микробиологическими ферментами, липазы насекомых получены из эукариотических клеток, что делает механизм их действия схожим с липазами других организмов.

У животных центром локализации липаз является поджелудочная железа, у насекомых липазная активность обнаружена в пищеварительном тракте. Липазы насекомых имеют наибольшее сродство к ненасыщенным жирным кислотам и активируются ионами кальция, что роднит их с липазами поджелудочной железы млекопитающих [11, 12].

Липазы классифицируются по типу расщепляемых ими субстратов, включая триацилглицерол липазы (расщепляют жиры до жирных кислот и глицерина), липопротеинлипазы (действуют на липопротеины), фосфолипазы (гидролизуют фосфолипиды) и специфические формы, такие как желудочные, панкреатические, языковые липазы, работающие с разными эфирами жирных кислот и глицерина [13].

Основные разновидности липаз по субстрату приведены в таблице 2.

Таблица 2

Основные типы липаз

Тип липазы	Описание
Триацилглицерол липазы (TAG-липазы)	Катализируют гидролиз триглицеридов (жиров) до моноглицеридов и жирных кислот. Панкреатическая липаза – главный фермент этой группы в пищеварении, работает на специфических участках глицерина (A1, A2, A3).
Липопротеинлипазы (LP L)	Расщепляют триглицериды, содержащиеся в липопротеинах плазмы крови, для получения энергии или запасания жира.
Фосфолипазы	Гидролизуют фосфолипиды – важные компоненты клеточных мембран, выделяя жирные кислоты.
Моноацилглицерол липазы (MAG-липазы) и диацилглицерол липазы (DAG-липазы)	Работают с промежуточными продуктами гидролиза жиров (диацилглицеролы и моноацилглицеролы), продолжая процесс их расщепления.
Гормон-чувствительные липазы (HSL)	Играют ключевую роль в мобилизации жиров из жировой ткани в ответ на гормональные сигналы.

Желудочные липазы и языковые (лингвальные) липазы	Начальные этапы переваривания жиров, особенно важны для младенцев.
---	--

Эти ферменты, являясь гидролазами (III класс ферментов), выполняют специфические функции по расщеплению сложных эфиров липидов в различных тканях и жидкостях организма, как в пищеварительной системе, так и в метаболических процессах [13, 14].

Липазы насекомых делятся на основные семейства: нейтральные липазы, кислотные липазы, липаза 2, липаза 3, GDSL и гормоночувствительные липазы (HSL). Все они относятся к суперсемейству гидролаз  $\alpha/\beta$  и играют важную роль в расщеплении липидов (триацилглицеролов, диацилглицеролов) для получения энергии или накопления. Также важны специализированные типы, такие как моноглицеридлипазы (MGL), особенно в мышечной ткани для обеспечения энергией во время полёта. Они участвуют в процессах пищеварения, транспорта и мобилизации энергии, часто используя каталитическую триаду Ser-Asp/Glu-His (рис. 1) [15, 16, 17, 18].



Рис. 1. Структура липазы [13]

Как и липазы другого происхождения, липазы насекомых имеют  $\alpha/\beta$ -гидролазную структуру, которая формирует глобулярную структуру с общей для всех каталитической триадой (Ser-Asp-His). Среди особенностей липазной структуры у насекомых можно перечислить удлиненные  $\beta 9$ -петли, а также гибкие домены lid/cap, которые имеют огромное значение в регуляции доступа к субстрату. Эти факторы вносят большой вклад в переваривании липидов и накоплении энергии, а также варьируются с течением жизни насекомого [15, 17].

Доступ к активному центру контролируется открытием крышки, которая в закрытом состоянии скрывает гидрофобную поверхность, окружающую активный центр.

Крышка открывается, когда фермент попадает на границу раздела фаз «масло-вода» (интерфазная активация).

Для нейтрализации ингибирующего действия солей желчных кислот панкреатическому ферменту требуется белковый кофактор, а именно колипаза [19].

Основополагающей структурой липаз насекомых является  $\alpha/\beta$ -гидролазная складка –  $\beta$ -слой из 8 нитей, которые окружены  $\alpha$ -спиралями и характерны как для липаз, так и для эстераз. Так же для стабилизации переходного состояния фермента в его структуру входит оксианионная дыра, которая образуется амидами основной цепи [16, 20, 21, 22].

Выделение липаз из эукариотических культур (таких как грибы, дрожжи, растения, животные) включает первоначальный скрининг с использованием липидсодержащего агара (трибутирин, оливковое масло) для выявления чистых зон, затем культивирование и стимулирование выработки ферментов (часто у бактерий/дрожжевых хозяев с помощью метагеномики), затем экстракцию (центрифугирование, лизис) и наконец, очистка с использованием таких методов, как хроматография (ионный обмен, аффинность) или водные двухфазные системы, часто с рекомбинантной экспрессией в *E. coli* для получения высокого выхода [23, 24, 25].

Для выделения липаз их насекомых используют следующие методы:

- Гомогенизация с добавлением буф растворов и отделение биомассы от раствора для получения надосадочной жидкости;
- Выделение фермента путем фракционирования различными растворителями с последующим осаждением;
- Очистка с помощью хроматографии и электрофореза [26].

Активность липазы определяется путем измерения скорости, с которой фермент гидролизует сложноэфирные связи в липидах с выделением таких продуктов, как свободные жирные кислоты, глицерин или хромофоры. Используются различные аналитические методы, в том числе титриметрические, колориметрические, флуориметрические и хроматографические [27, 28, 29, 30].

Различают липазный катализ, как в водной среде, так и в среде органического растворителя [31].

Авторами представленной работы были проведены поисковые эксперименты по определению активности липаз гусениц восковой моли (*Galleria mellonella*). В качестве реакционной среды для

проведения ферментативной реакции выступали гексан и вода. Эффективность проведения реакции оценивали по кислотному числу. Титрование полученной смеси проводили спиртовым раствором гидроксида калия  $0,1 \text{ моль/дм}^3$  в присутствии фенолфталеина.

В качестве источника липаз использовали замороженные гусеницы, субстрата – ПЖВМ (продукты жизнедеятельности восковой моли), взятых при комнатной температуре. В связи с тем, что гусеницы пчелиной моли живут на мерве, то они обладают ферментативной системой, способной частично деструктурировать пчелиные соты. ПЖВМ был выбран, чтобы получить продукт с более низкой молекулярной массой для дальнейшего использования в косметике. Гусениц измельчали в ступке. Затем взвешивали добавляли к ПЖВМ. Опыты подразделялись на два в зависимости от используемой реакционной среды – воды или гексана.

Перед проведением ферментативной реакции определяли кислотное числа в объектах исследования: воска пчелиного, ПЖВМ и личинки пчелиной моли (таблица 3).

Таблица 3

Кислотное число объектов исследования

Название объекта	ПЖВМ	Гусеницы	Смесь ПЖВМ и гусениц
Кислотное число	$12,5 \pm 0,1$	$10,9 \pm 0,2$	$11,3 \pm 0,1$

Пробы ставили в термостат для проведения ферментативной реакции. В соответствии с литературными данными [2] оптимальный диапазон работы липаз  $30^0 - 40^0\text{C}$ . Поэтому пробные эксперименты проводили при условиях: температура  $30^0\text{C}$ , соотношение твердая фаза:гомогенизат 1:1, продолжительность от 40 минут до 1,5 часа. Полученные результаты приведены в таблице 4.

Таблица 4

Значение кислотного числа в зависимости от времени и температуры при соотношении гусениц и ПЖВМ 1:1

Вещество для экстракции	Время, мин	Температура, °C	Кислотное число
Водная среда	40	30	$12,3 \pm 0,1$
Водная среда	60	30	$12,5 \pm 0,1$
Водная среда	70	30	$12,9 \pm 0,1$
Водная среда	70	30	$12,6 \pm 0,1$

В соответствии с полученными данными можно сказать, что липазы обладают ферментативной активностью по отношению к ПЖВМ, но незначительной. Кислотное число увеличивалось незначительно на 14,1%. Это может быть связано с несколькими причинами: форма ПЖВМ в виде плотной гранулы препятствует проникновению фермента в внутрь. Также липазы могут специфичны по концевым 1,3-эфирным связям триглицерида, а деструкция центральных 2-связи затруднена. Еще одной причиной может быть наличие спиртов в ПЖВМ. Спирты являются ингибиторами липаз [32].

В связи с тем, что в воде не растворяется воск, то следующим этапом работы стало введение растворителя в реакционную среду. Пробу подготавливали аналогичным способом, соотношение гусениц и ПЖВМ также составляло 1:1. К смеси ПЖВМ и гомогенной биомассы гусениц добавляли гексан. В качестве контроля использовали ПЖВМ, в который добавляли гексан и выдерживали в течение 80 минут в термостате. Хочется отметить, что кислотное число соответствовало данным указанным в таблице 3 и не изменялось во времени.

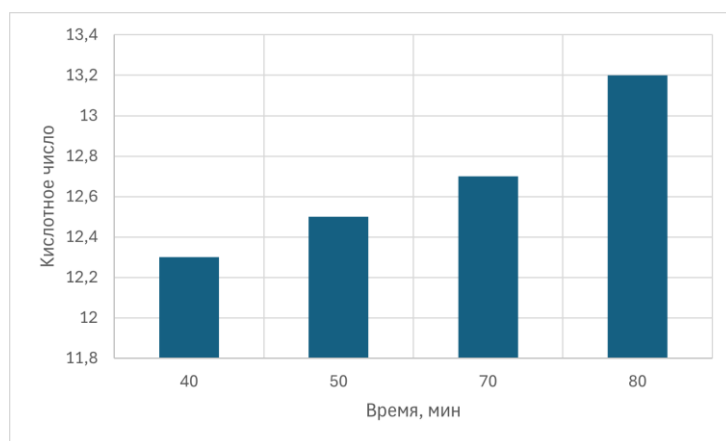


Рис. 3. Влияние времени обработки ПЖВМ с гексаном кислотное число

Анализируя данные (таблицы 3,4 и рисунок 2), можно сделать вывод о том, что добавление гексана влияет на протекание реакции с ПЖВМ. Кислотное число увеличивается до 16,8%. Это свидетельствует о том, что субстрат становится более доступным для липаз. Тестовый эксперимент показал, что увеличение времени приведет к более высокому результату.

В заключение работы можно отметить, что липазы – группа ферментов, действующих на сложноэфирные связи. Они расщепляют триглицериды до диглицеридов, а затем до моноглицеридов и свободных жирных кислот.

Спектр применения липаз широк – от пищевой промышленности до производства детергентов. Липазы находят в различных организмах, включая растения, животных, грибов и бактерий. Центром их локализации в организме насекомых является желудочно-кишечный тракт.

Липазы различают по субстратной специфичности триацилглицерол липазы, липопротеинлипазы, фосфолипазы и другие специфические формы. По биохимическому строению липазы являются  $\alpha/\beta$ -гидролазной структурой, их каталитический центр строится из триады аминокислот Ser-Asp-His.

Пробный эксперимент показал, что гомогенизат личинок огневки содержит липазы. При этом активность липаз значительно меньше, чем в среде с органическим растворителем – гексаном.

*Авторы выражают благодарность генеральному директору общества с ограниченной ответственностью научно-производственной организации «ЖИВА» Волкову Александру Олеговичу за предоставление биологического материала для исследований.*

### **Конфликт интересов**

Авторы заявляют, что у них нет известных им конкурирующих интересов, которые могли бы повлиять на работу, представленную в настоящей статье.

### **Список литературы**

1. Способ получения биологически активного продукта из личинок большой восковой моли : пат. № 2038086 С1 РФ / Н. А. Спиридонов, А. К. Рачков, С. А. Мухин, М. Н. Кондрашова.
2. Богомолов, Д. Ю. Изучение *in silico* структурных особенностей липаз из различных продуцентов как потенциальных агентов для иммобилизации на заряженных и гидрофобных носителях / Д. Ю. Богомолов, Ф. А. Сакибаев, М. Г. Холявка [и др.]. – 2021.
3. Nomenclature Enzyme Commission : ЕС 3.1.1.3 [Электронный ресурс] // IUBMB Enzyme Nomenclature : официальный сайт. – URL: (дата обращения: 29.01.2026).
4. Сорокина, К. Н. Комплексные подходы для получения востребованных продуктов биотехнологии: биотоплива, янтарной кислоты, модифицированных жиров и ферментных препаратов / К. Н. Сорокина. – 2023.
5. Patel, A. A study on lipase: review / A. Patel, P. Andhare, Y. Marchawala, S. Bhattacharya, R. Upadhyay. – 2021.
6. Mehta, A. The lipases and their applications with emphasis on food industry

- / A. Mehta, S. Guleria, R. Sharma, R. Gupta. – 2021.
7. Ashish, K. Industrial applications of fungal lipases: a review / K. Ashish, V. Verma, V. K. Dubey [et al.].
  8. Wang, G. Recent advances in engineering microbial lipases for industrial applications / G. Wang, A. Abdella, M. Fakhari [et al.].
  9. Xu, L. Biological modification and industrial applications of microbial lipases: A general review / L. Xu, J. Li, H. Zhang [et al.].
  10. Prem, C. Microbial lipases and their industrial applications: A comprehensive review / C. Prem, Enespa, S. Ranjan, A. Pankaj Kumar // *Microbial Cell Factories*. – 2020. – Vol. 19, is. 169. – DOI: 10.1186/s12934-020-01428-8. – URL: (access date: 26.04.2025).
  11. Santana, C. C. Lipase Activity in the Larval Midgut of *Rhynchophorus palmarum*: Biochemical Characterization and the Effects of Reducing Agents / C. C. Santana, L. A. Barbosa, I. D. Basílio Júnior [et al.].
  12. Толоконников, В. П. Морфологические адаптации и трофические связи преимагинальных стадий *Wohlfahrtia magnifica* Schiner, 1862 (Diptera, Sarcophagidae). Структурно функциональная организация паразитарной системы при вольфартиозе овец / В. П. Толоконников, В. В. Марченко, В. В. Михайленко, В. С. Соколова. – 2022.
  13. Park, J.-Y. Lipase and Its Unique Selectivity: A Mini Review / J.-Y. Park, K.-M. Park. – 2022.
  14. Dong, Z. Investigation of Structural Features of Two Related Lipases and the Impact on Fatty Acid Specificity in Vegetable Fats / Z. Dong, K. Olofsson, J. A. Linares Pastén, E. Nordberg Karlsson. – 2022.
  15. Han, W.-K. Characterization of lipases revealed tissue specific triacylglycerol hydrolytic activity in *Spodoptera frugiperda* / W.-K. Han, H.-H. Zhang, F.-X. Tang, Z.-W. Liu. – 2024.
  16. Wang, J. Insight into the Functional Diversification of Lipases in the Endoparasitoid *Pteromalus puparum* (Hymenoptera: Pteromalidae) by Genome scale Annotation and Expression Analysis / J. Wang, J. Song, Q. Fang [et al.]. – 2020.
  17. Wei, X. Genome Wide Identification and Analysis of Lipases in Fig Wasps (Chalcidoidea, Hymenoptera) / X. Wei, J. Li, T. Wang [et al.]. – 2022.
  18. Li, Y.-X. Lipases are differentially regulated by hormones to maintain free fatty acid homeostasis for insect brain development / Y.-X. Li, Q. Yan, T.-W. Liu, J.-X. Wang, X.-F. Zhao. – 2024.
  19. Enzyme Database : EC 3.1.1.3 [Электронный ресурс] // ExPASy : Bioinformatics Resource Portal. – URL: (дата обращения: 29.01.2026).
  20. Pusch, L. M. Alpha/beta hydrolase domain containing 6 (ABHD6) – a multifunctional lipid hydrolase / L. M. Pusch, L. Riegler Berket, M. Oberer [et al.] // *Metabolites*. – 2022. – Vol. 12, № 8. – P. 761.
  21. Liu, T. W. KAT8 is upregulated and recruited to the promoter of *Atg8* by FOXO to induce H4 acetylation for autophagy under 20 hydroxyecdysone regulation / T. W. Liu, Y. M. Zhao, K. Y. Jin [et al.] // *J. Biol. Chem.* – 2024. – Vol. 300, № 3. – P. 105704.
  22. Shen, Y. Genome wide identification of lipases in silkworm (*Bombyx mori*)

- and their spatio temporal expression in larval midgut / Y. Shen, G. Chen, S. Zhao, X. Wu // *Gene*. – 2022. – № 1. – P. 813.
23. Ali, S. The Recent Advances in the Utility of Microbial Lipases: A Review / S. Ali, S. A. Khan, M. Hamayu, I.-J. Lee. – 2023.
  24. Ilesanmi, O. I. Isolation, optimization and molecular characterization of lipase producing bacteria from contaminated soil / O. I. Ilesanmi, A. E. Adekunle, J. A. Omolaiye [et al.]. – 2020.
  25. Thabet, H. S. Isolation, screening, and molecular identification of lipase producing bacteria from different bacterial sources / H. S. Thabet, I. Seddik, W. A. Mohamed [et al.]. – 2023.
  26. Purification and characterization of fat body lipase from the greater wax moth, *Galleria mellonella* (Lepidoptera: Pyralidae). – URL: .
  27. Torchi, A. Basic strategies for monitoring lipase activity: A review / A. Torchi, H. Ghangui, S. Cherif. – 2025.
  28. Qiao, Z. Detection of lipase activity in cells by a fluorescent probe based on formation of self assembled micelles / Z. Qiao [et al.] // *IScience*. – 2020.
  29. Rajan, S. A simple, rapid, and sensitive fluorescence based method to assess triacylglycerol hydrolase activity / S. Rajan [et al.] // *J. Lipid Res*. – 2021.
  30. Stemler, C. D. Comparative characterization of baking lipase substrate specificities using emulsions and the p-nitrophenyl assay / C. D. Stemler [et al.] // *LWT*. – 2022.
  31. Государственная фармакопея Российской Федерации. XV издание / Научный центр экспертизы средств медицинского применения. – Москва : Научный центр экспертизы средств медицинского применения, 2023. – 704 с.
  32. Гарабаджиу, А. В. Основные аспекты использования липаз для получения биодизеля (обзор) / А. В. Гарабаджиу, В. А. Галынкин, М. М. Карасёв, Г. В. Козлов, Т. Б. Лисицкая // *Известия Санкт-Петербургского государственного технологического института (технического университета)*. – 2010. – 5 с.

*Об авторах:*

СПИРИДОНОВА Софья Александровна – аспирант, Тверской государственный университет (170100, г. Тверь, ул. Желябова, 33), e-mail: MurakRemerk@yandex.ru, ORCID: 0009-0000-4076-7490, SPIN-код: 9807-7259.

ПРУТЕНСКАЯ Екатерина Анатольевна – к.б.н., доцент, заведующий кафедрой биохимии и биотехнологии, Тверской государственный университет (170100, г. Тверь, ул. Желябова, 33), e-mail: Prutenskaya.EA@tversu.ru, ORCID: 0000-0002-5596-3336, SPIN-код: 3765-5014, Author ID: 615407.

ФЕОФАНОВА Мариана Александровна – к.х.н., доцент, декан,

заведующий кафедрой неорганической и аналитической химии, Тверской государственной университет (170100, г. Тверь, ул. Желябова, 33), e-mail: Feofanova.MA@tversu.ru, Autor ID: 511430, SPIN-код: 6178-6092.

## Enzymatic activity of insect lipases

S.A. Spiridonova, E.A. Prutenskaya, M.A. Feofanova

*Tver state university, Tver*

Lipases, along with proteolytic and pectolytic enzymes, are of great practical importance. Most often, enzymes of recombinant microorganisms are used, in the genome of which the genes of eukaryotic organisms are embedded. The search for lipase producers capable of destroying complex waxes and phospholipids is a multi-faceted task with many possible solutions. The large wax moth (*Galleria mellonella*) is a promising object of study, as it is able to transform beeswax and partially destroy polymers, including chitin. In this regard, it is important to study the properties and structure of insect lipases, especially fireflies.

**Keywords:** *Insect lipases, enzymatic catalysis, classification of enzymes, industrial use of enzymes, methods of enzyme isolation, determination of enzyme activity.*

Дата поступления в редакцию: 17.02.2026.

Дата принятия в печать: 24.02.2026.