

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 5, Number 323 (2017), 144 – 150

**M. A. Dzhakasheva, A. A. Abubakirova, A. M. Essimova,
Zh. R. Elemanova, R. A. Abildaeva**

M. Auezov South-Kazakhstan state university, Shymkent, Kazakhstan.
E-mail: dzhakasheva_m@mail.ru

**THE COMPARATIVE ANALYSIS OF CULTIVATION WAYS
OF FILAMENTOUS FUNGI *ASPERGILLUS AWAMORI F-RKM 0719***

Abstract. The new way long of a strain-producer *Aspergillus awamori F-RKM 0719* pectinases cultivation, received as a result of multistage selection on "Biotechnology" department of the M. Auezov South Kazakhstan State University is technologically worked out and approved. The comparative analysis of a long and traditional batch way of micromycet cultivation is carried out. It is established, that a long method of *A. awamori F-RKM 0719* strain deep cultivation with adsorption on polyurethane substrate increases pectinase biosynthesis in 4.2, thus duration of cultivation increases in 15 times that makes 1260 h of continuous cultivation. However the given method provides working out of the new equipment since process of cultivation proceeds in non-standard conditions. On the basis of the carried out researches special new bioreactor is developed, because of the absence of the similar equipment in the market. As a result of the comparative analysis of a traditional and new way of cultivation it is established, that a long way of cultivation of filamentous fungi *A. awamori F-RKM 0719* with adsorption on a substrate is unprofitable, because development and implementation of the new equipment is characterized by the big time and economic expenses. Therefore application of a standard periodic way of cultivation under production conditions is recommended.

Keywords: filamentous fungi, *Aspergillus awamori*, pectolytic enzyme, selection, pectolytic activity, cultivation, cell immobilization, bioreactor, new equipment

УДК 577.151.52+577.15.08

**М. А. Джакашева, А. А. Абубакирова, А. М. Есимова,
Ж. Р. Елеманова, Р. А. Абилдаева**

Южно-Казахстанский государственный университет им. М. Ауэзова, Шымкент, Казахстан

**СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ СПОСОБОВ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ
МИЦЕЛИАЛЬНОГО ГРИБА *ASPERGILLUS AWAMORI F-RKM 0719***

Аннотация. Технологически проработан и апробирован новый способ длительного культивирования штамма-продуцента пектиназ *Aspergillus awamori F-RKM 0719*, полученного в результате многоступенчатой селекции на кафедре «Биотехнология» Южно-Казахстанского государственного университета им. М. Ауэзова. Проведен сравнительный анализ длительного и традиционного периодического способа культивирования микромицета. Установлено, что длительный метод глубинного культивирования штамма *A. awamori F-RKM 0719* с адсорбцией на пенополиуретановой подложке увеличивает биосинтез пектиназ в 4,2, при этом длительность культивирования увеличивается в 15 раз, что составляет 1260 ч непрерывного культивирования. Однако данный метод предусматривает разработку нового оборудования, т.к. процесс культивирования протекает в нестандартных условиях. На основании проведенных исследований разработан специальный новый ферментер из-за отсутствия подобного оборудования на рынке. В результате сравнительного анализа традиционного и нового способа культивирования установлено, что длительный способ культивирования мицелиального гриба *A. awamori F-RKM 0719* с адсорбцией на подложке является нерентабельным, так как

разработка и внедрение нового оборудования характеризуется большими временными и экономическими затратами. Поэтому в производственных условиях рекомендуется применение стандартного периодического способа культивирования.

Ключевые слова: мицелиальный гриб, *Aspergillus awamori*, пектолитические ферменты, пектолитическая активность, культивирование, иммобилизованные клетки, ферментер, новое оборудование.

Введение. На сегодняшний момент важной задачей биотехнологии является разработка и совершенствование методов культивирования микроорганизмов [1]. Универсальным методом для выращивания микробиологических объектов является глубинное культивирование в жидких средах [2, 3], так как оно обеспечивает стерильность ведения производства [4], позволяет получать конечные продукты с меньшим содержанием примесей [5, 6].

Характер роста микроорганизмов и образование ими метаболитов тесным образом связаны со способом их культивирования [7]. При периодическом способе культивирования в ферментер загружают сразу весь объем питательной среды (ПС) и вносят посевной материал (ПМ). Выращивание микроорганизмов проводят в оптимальных условиях, определенных экспериментальным путем, в течение определенного времени, после чего процесс останавливают, сливают содержимое ферментера и выделяют целевой продукт [8, 9]. В промышленности достаточно широко применяют периодическое культивирование с подпиткой [10], разновидностью которого является объемно-доливочное культивирование, когда часть объема из биореактора время от времени изымается при добавлении эквивалентного объема среды (полунепрерывное культивирование) [11, 12].

В литературе имеются данные [13-15] о длительном культивировании мицелиальных грибов, продуцирующих гидролитические ферменты. Новый способ культивирования микромицетов основан на иммобилизации клеток (ИМК) на твердом носителе и их росте в глубинных условиях, который обеспечивает более высокий уровень ферментообразования и многократность его использования.

С помощью вышеуказанного метода исследовано продуцирование комплекса пектолитических ферментов (ПФ) мицелиальным грибом *Aspergillus awamori* F-RKM 0719, и проведен сравнительный анализ эффективности данного способа культивирования и традиционного периодического, что послужило целью исследований данной работы.

Материалы и методы исследования

В качестве объекта исследования использовали штамм *A. awamori* F-RKM 0719, полученный в результате многоступенчатой селекции на кафедре «Биотехнология» Южно-Казахстанского государственного университета им. М. Ауэзова [16, 17].

Глубинное культивирование микромицета проводили в колбах Эрленмейера объемом 250 мл с 100 мл ПС на качалке (200-220 об/мин) при 28-30°C с pH – 3,2 двумя способами: при периодическом культивировании в течение 84 ч и культивировании продуцента в иммобилизованном на пенополиуретановой подложке состоянии по методу [11]. ПС содержала масс. %: свекловичный жом – 3, сахара – 2, солодовые ростки – 1, $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ – 0,1, KH_2PO_4 – 0,1, MgSO_4 – 0,1.

Активность пектолитического комплекса ферментов определяли по методике действующего ГОСТ Р 55298-2012 [18]. Пектинлиазную (ПЛ) активность определяли методом, основанным на измерении начальной скорости накопления А-4,5-ненасыщенных продуктов деструкции цитрусового пектина [19]. Реакцию проводили в кварцевой кювете двухлучевого спектрофотометра, имеющего термостатируемое кюветное отделение. На самописце регистрировали накопление продукта, поглощающего при длине волны 232 нм в течение 1-5 минут. Кюветное отделение термостатировали при 40 °С. В кювету для образца и в кювету сравнения (кварцевые кюветы на 3 мл) помещали по 2,9 мл субстрата и термостатировали в кюветном отделении 5 мин. Определяли показания поглощения относительно кюветы сравнения. Затем в кювету для образца добавляли 100 мкл раствора фермента, тщательно перемешивали и регистрировали нарастание оптической плотности в течение 1-5 минут с помощью самописца. За единицу активности во всех случаях принимали такое количество фермента, которое приводит к образованию 1 мкмоль продукта реакции в минуту.

Результаты и обсуждение

При традиционно осуществляемом глубинном культивировании микромицетов апикальный характер роста их клеток обуславливает формирование мицелия в виде пеллет или нитчатой хлопьевидно-нитевидной массы [13]. Одним из условий интенсивного синтеза ферментов грибами является равный доступ всех клеток к питательным веществам, который наиболее максимально обеспечивается при росте микромицетов в виде пленки.

Для образования пленки был исследован наиболее старый и простой адсорбционный метод, предусматривающий выращивание микромицета на монолитной подложке вдоль ее поверхности, синтезируя ПФ. Из-за высокой концентрации разросшихся клеток аэрация затрудняется, что снижает уровень биосинтеза пектиназ, поэтому с подложки удаляли всю биомассу. Полученные нами данные согласуются с данными Р.К. Блиевой [14]. Длительность культивирования ИмК штамма *A. awamori F-RKM 0719* увеличена до 12-14 сут, в то время как свободные клетки (СвК) образовывали максимум пектиназ на 3-4-е сут. Полученные таким образом ИмК характеризуются длительным и стабильным биосинтезом комплекса ПФ (рисунок 1). Уровень максимальной пектолитической активности разработанного иммобилизованного биокатализатора (ИмБ) составила 8,8 ед/мл, что в 4,2 раза превышает уровень СвК. В производственных условиях использование ИмБ с максимальной эффективностью ограничено пределами 1240-1260 ч.

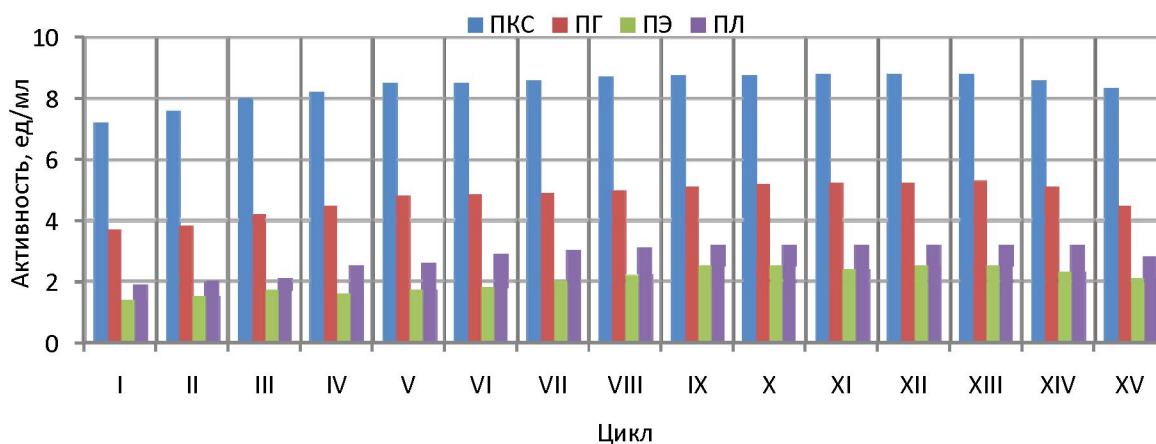


Рисунок 1 – Комплекс пектолитической активности, накапливающейся в среде при многократном использовании иммобилизованного штамма *A. awamori F-RKM 0719*. Длительность одного рабочего цикла – 84 ч

Для оценки эффективности получения пектиназ в табл. 1 приведены сравнительные характеристики условий и продуктов культивирования СвК и ИмК мицелия.

Таблица 1 – Сравнительная характеристика условий и продуктов культивирования свободных и иммобилизованных клеток *A. awamori F-RKM 0719*

Параметры культивирования	Свободные клетки	Иммобилизованные клетки
Длительность культивирования, ч	84	1260
Максимальный синтез пектиназ во времени, ч	70-80	Постоянно в течение 1260
Пектолитическая активность, ед/мл	2,10	8,80
Полигалактуроназная активность, ед/мл	1,25	5,30
Пектинэстеразная активность, ед/мл	0,90	2,50
Пектинлиазная активность, ед/мл	1,30	3,20

Таким образом, ИмК штамма *A. awamori F-RKM 0719* продуцировали в 4,2 раза больше ПФ, при этом уровень ПГ повысился в 4,2 раза, ПЭ - в 2,8 раза и ПЛ - в 2,4 раза. Кроме того длительность культивирования микромицета увеличена от 12 до 50-52 сут.

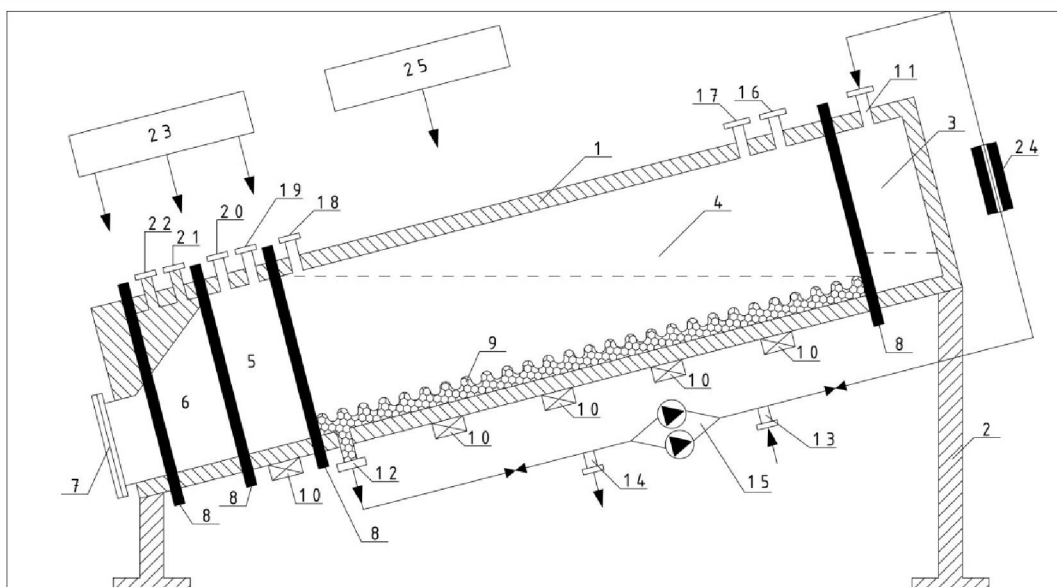


Рисунок 2 – Конструкция специального ферментера, предназначенного для длительного культивирования на пенополиуретановой подложке:

- 1 – корпус ферментера; 2 – несущая рама; 3 – питательный отсек; 4 – ростовой отсек; 5 – защитный отсек; 6 – приемный отсек; 7 – штуцер для выгрузки биомассы; 8 – разделительные перегородки с прижимными планками; 9 – пенополиуретановая подложка; 10 – вибраторы; 11, 12 – штуцера для циркуляции культуральной жидкости; 13 – штуцер для подачи свежей питательной среды; 14 – штуцер для вывода культуральной жидкости на выделение ферментов; 15 – циркуляционный удвоенный насос; 16 – штуцер для ввода инокулята; 17-22 – штуцера для облегчения газообмена и стерилизации в отсеках; 23 – механизм управления положением перегородок; 24 – система поддержания температуры культуральной жидкости; 25 – система поддержания оптимальных условий

На основании полученных экспериментальных данных был разработан ферментер (рисунок 2), так как процесс культивирования *A. awamori F-RKM 0719* предлагается проводить на пенополиуретановой подложке, что позволит перевести режим культивирования в требуемый режим и повысить эффективность работы установки при сохранении ее стерильности. Изменения внесены по следующим позициям:

1. Уменьшен угол наклона основной камеры, что позволяет увеличить эффективность разделения биомассы и культуральной жидкости (КЖ) при их выгрузке.
2. Изменена система циркуляции ПС и выгрузки биомассы и КЖ, что позволит повысить скорость роста продуцента.
3. Увеличена степень заполнения камеры с 10 до 50%, что позволяет проводить процесс культивирования в глубинном режиме (вместо поверхностного), обеспечивая тем самым соответствие производственных условий данным лабораторных исследований и увеличение производительности ферментера.
4. Изменено соотношение между объемами питательного, ростового, защитного и приемного отсеков, что также будет способствовать увеличению производительности ферментера без изменения его габаритных размеров.

В предварительно простерилизованную камеру ферментера (3) через штуцера вводят стерильный питательный раствор (13) и ПМ (16)- продуцент *A. awamori F-RKM 0719*. Засев инокулята осуществляется один раз за весь цикл культивирования, который состоит из нескольких этапов. В процессе выращивания в питательный отсек из нижней части ростового отсека по трубопроводу циркуляционным сдвоенным насосом (15) перекачивают питательный раствор, из питательного отсека он через пористую прокладку вновь просачивается в ростовой отсек (4), что позволяет обеспечить перемешивание КЖ и свободный доступ свежей ПС ко всем участкам биомассы штамма *A. awamori F-RKM 0719*, иммобилизованного на пенополиуретановой подложке (9). Скорость циркуляции задается степенью пережима емкости специальными планками и работой насоса. Аэрация биомассы осуществляется стерильным воздухом через отдельные штуцера (17-22). По окончании первого этапа процесса культивирования, который длится 84 ч, из питательного

отсека через штуцер (14) удаляют КЖ. Поднимают разделительные перегородки (8), делящие емкость на защитный и приемный отсеки, в результате чего упомянутые отсеки с ростовым отсеком образуют единую камеру. С помощью вибраторов (10) полученная биомасса сбрасывается в приемный отсек (6). Затем отсеки вновь перекрываются, причем защитный отсек подвергают газовой стерилизации. После этого открывают горловину приемного отсека (7) и выгружают собранную биомассу. После выгрузки приемный отсек герметизируют и также подвергают газовой стерилизации. Скорость подачи питательного раствора можно регулировать, что позволяет обеспечить его рациональный расход, доступен ввод добавок в питательный раствор. Наличие защитного отсека (5) с независимым газообменом дополнительно гарантирует сохранение стерильности в период выгрузки биомассы. Имеющиеся вибраторы позволяют равномерно распределить ПМ и обеспечить быстрое удаление биомассы. Процесс идет в длительном периодическом режиме с периодическими удалениями биомассы и отбором КЖ в соответствии с данными лабораторных исследований: длительность одного этапа – 84 часа, количество этапов за один цикл – 15.

В таблице 2 приведен сравнительный анализ способов культивирования: традиционное периодическое культивирование на современном промышленном ферментере BIORUS® 150 L (Россия) [20] и длительное культивирование на нестандартном ферментере (рисунок 2).

Таблица 2 – Сравнительный анализ двух способов культивирования

№	Показатель	Размерность	Способ культивирования	
			периодическое	длительное
1	Рабочий объем	л	105	105
2	Календарный фонд работы оборудования	ч	8760	8760
3	Межцикловое время	ч	1200	80
4	Рабочее время работы оборудования	ч	7560	8680
5	Длительность цикла	ч	84	1260 (84x15)
6	Кол-во циклов за год	-	90	7
7	Кол-во посевного материала	л	472,5	36,8
8	Кол-во КЖ за год (с учетом 5% потерь)	л	8980,0	10500,0
9	Общая ПА в КЖ	ед/мл	2,1	8,8 (средняя за 15 этапов отбора КЖ)
10	Выход ФП по ПА за год	ед	22,45x10 ⁶	110,25x10 ⁶

Таким образом, с использованием нестандартного оборудования сокращается межцикловое время на загрузку-выгрузку и стерилизацию ферментера в 15 раз, что приводит к увеличению эффективного фонда работы оборудования на 14,8%, сокращается расход ПМ в 12,8 раза. Общая пектолитическая активность по новому способу в среднем за 15 этапов одного цикла составляет 8,8 ед/мл по сравнению 2,1 ед/мл по традиционному способу за счет создания благоприятных условий для реализации генетического культуры в иммобилизованном состоянии. В результате выход ПФ по пектолитической активности за год возрастает в 4,9 раза. Применение в стандартного ферментера BIORUS® 15 (или уже имеющегося оборудования для глубинного культивирования) оправдано в условиях уже действующего производства ФП, т.к. внедрение нового оборудования связано с экономическими затратами на его изготовление и отработку режима культивирования в производственных условиях.

Закключение. Несмотря на то, что новый длительный метод культивирования обеспечивает существенные преимущества в процессе биосинтеза ферментов основным недостатком данного метода является его нерентабельность, так как разработка и внедрение нового оборудования характеризуется большими временными и экономическими затратами. Кроме того, клетки теряют свою жизнеспособность и не могут быть вновь использованы для вторичной сорбции, а остатки ПС и сорбент представляют собой массовый отход производства в каждом рабочем цикле. Поэтому в производственных условиях рекомендуется применение стандартного периодического способа культивирования.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Prasanna, B.D. Biotechnology and Biochemical Engineering. Select Proceeding of ICACE 2015. / B.D. Prasanna, N. Gummadi Sathyanarayana, V. Vadlani Praveen. – Springer, 2016. – 239 p. ISBN-13: 978-9811019197
- [2] Fu, G.M., Optimization of liquid-state fermentation conditions for the glyphosate degradation enzyme production of strain *Aspergillus oryzae* by ultraviolet mutagenesis / G.M.Fu, R.Y. Li, K.M. Li, M. Hu, X.Q. Yuan, B. Li, F.X. Wang, C.M. Liu, Y.Wan // Preparative Biochemistry and Biotechnology. - 2016. –V. 46(8), P. 780-787.DOI: 10.1080/10826068.2015.1135462
- [3] Донцов, А.Г. Пектинолитические ферменты: очистка, активация, микробиологический синтез / А.Г. Донцов, А.А. Шубаков. - Екатеринбург: Изд-во УрО РАН, 2010. - С. 82-90. ISBN 978-5-7691-2148-7.
- [4] Винаров, А.Ю. Ферментационные аппараты для процессов микробиологического синтеза / А.Ю. Винаров, Л.С. Гордеев. - Москва, 2005. - 278 с. ISBN: 5-94343-087-3
- [5] Lonsane, B.K. Enzyme / B.K. Losane, N.P Ghildyal., S. Budiatman, S.V. Ramakrishna. Microbiological. Technology. London, 1995 - P. 258–265.
- [6] Ajayi, A.A. Studies on pectinolytic and proteolytic enzymes from deteriorated grapes (*Vitis vinifera*) / A.A. Ajayi, E.O. Osunlalu, C.F. Peter-Albert, A.O. Adejuwon // Covenant Journal of Physical and Life Sciences. -2014. - Vol. 1. - No. 2. P. 1-15.
- [7] Бушина, Е.В. Новые ферментные препараты с высокой активностью пектиназ и гемицеллюлаз на основе штаммов-продуцентов *Penicillium canescens* / Е.В. Бушина, О.Г. Короткова, А.В. Кошелев, В.А. Немашкалов, А.М. Рожкова, Е.А. Рубцова, А.П. Силицын // Прикладная биохимия и микробиология. – 2015. – Т.51. - №5. – С. 502-511. DOI: 10.7868/S0555109915050141.
- [8] Nakkeeran, E. Techno-economic analysis of processes for *Aspergillus carbonarius* polygalacturonase production / E. Nakkeeran, M.K. Gowthaman, S. Umesh-Kumar, R. Subramanian // Journal of Bioscience and Bioengineering. – 2010. - Vol.113. –No.5. – P.634-40. DOI: 10.1016/j.jbiosc.2011.12.021.
- [9] Blandino, A. Polygalacturonase production by *Aspergillus awamori* on wheat in solid-state fermentation / A. Blandino, T. Iqbalsyah, S.S. Pandiella, D. Cantero, C. Webb // Appl. Microbiol. Biotechnol. -2002. – Vol.58. – No. 2. P. 164-169. DOI: 10.1007/s00253-001-0893-4.
- [10] Громовых, Т.И. Методы выделения, изучения и культивирования микроорганизмов / Т.И. Громовых, В.А. Тюльпанова, В.М. Гукасян, С.В. Шмарловская. - Красноярск: СибГТУ, 2002. - 152 с. ISBN 5-8173-0003-6.
- [11] Radha, S. Development of mutant fungal strains of *Aspergillus niger* for enhanced production of acid protease in submerged and solid state fermentation / S. Radha, R. Himakiran Babu, A. Sridevi, N. B. L. Prasad, G. Narasimha // European Journal of Experimental Biology. – 2012. – Vol.2. –No.5. – P. 1517-1528. DOI: 10.1080/09593330.2012.701236.
- [12] Ho, H.L. Strain development of *Aspergillus brasiliensis* using physical and chemicals mutagenesis for possible overproduction of xylanase, amylase, protease and cellulase under submerged fermentation / H.L. Ho, M.H. Abduljubar // British Microbiology Research Journal. 2016. – Vol.12. –No.5. –P. 1-19. DOI: 10.9734/BMRJ/2016/22953.
- [13] Блиева, Р.К. Новый метод длительного культивирования и селекции продуцентов ферментов / Р.К. Блиева // Микробные биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты: сб. науч. раб. – Минск: Изд-во «Белорусская наука», 2013. – С. 29-39.
- [14] Blieva, R.K. Biosynthesis of enzymes by aggregated and immobilized mycelium of micromycetes / R.K. Blieva // Microbiol. Biotechnol. – 1988. – V. 3. N 2. – P. 37-44.
- [15] Loginov, I.A. Prospects of using continuous cultivation for rapid selection of microbial strain-destroyer of toxic pollutants / I.A. Loginov, A.V. Bril'kov. // In international baikal symposium on microbiology (IBSM-2003) «Microorganisms in ecosystems of lakes, rivers and reservoirs». – Irkutsk: Russia, 2003. – P. 85-86.
- [16] Dzhakasheva, M.A. Getting the active strain of *Aspergillus awamori* – pectinase producer /M.A. Dzhakasheva, B.Sh. Kedelbayev // International journal of applied and fundamental research. - 2014. - Vol. 11. - №4. - P.593-597.
- [17] Dzhakasheva, M. Selection and characteristic of the *Aspergillus awamori* mutant strain – pectinase producers / M. Dzhakasheva, B. Kedelbaev, P. Lieberzeit, B. Mutaliev, Zh. Elemanova, A. Esimova, A. Abubakirova // ICITE – 2016: III international conference «Industrial technologies and engineering». Shymkent. - 2016. - P. 256-260.
- [18] Ферментные препараты для пищевой промышленности. Методы определения пектолитической активности: ГОСТ Р 55298-2012. – Введ. 2012-29 -10. - М.: Стандартинформ, 2014. - IV, 24 с.: ил.
- [19] Препараты ферментные. Методика выполнения измерений β глюконазой, ксиланазой, целлюлазой активностей: – Минск: РУП «Бел. гос. ин-т метрологии», 2009. – 36 с.
- [20] Ферментеры и биореакторы (<http://bio-rus.ru/stati/fermentery-i-bioreaktory.html>).

REFERENCES

- [1] Prasanna B.D., Sathyanarayana N. Gummadi, Praveen V. Vadlani (2016) Biotechnology and Biochemical Engineering. Select Proceeding of ICACE 2015. Springer. 239 p. ISBN-13: 978-9811019197
- [2] Fu G.M., Li R.Y., Li K.M., Hu M., Yuan X.Q., Li B., Wang F.X., Liu C.M., Wan Y. (2016) Optimization of liquid-state fermentation conditions for the glyphosate degradation enzyme production of strain *Aspergillus oryzae* by ultraviolet mutagenesis. 46(8):780-787.DOI: 10.1080/10826068.2015.1135462
- [3] Doncov A.G., Shubakov A.A. (2010) Pectinolytic enzymes: cleaning, activating, microbiological synthesis [Pektinoliticheskie fermenty: oshistka, aktivacija, mikrobiologicheskij sintez]. Ekaterinburg: Publishing House of the Ural Branch of R [Ekaterinburg: UrO RAN]. P. 82-90. ISBN 978-5-7691-2148-7. (In Russian)
- [4] Vinarov A.Yu., Gordeyev L.S. (2005) Fementation Apparatus for Microbiological Synthesis Processes [Fermentatsionnyye apparaty dlya protsessov mikrobiologicheskogo sinteza]. Moscow [Moskva]. 278 p. ISBN: 5-94343-087-3. (In Russian)
- [5] Lonsane B.K., Ghildyal N.P., Budiatman S., Ramakrishna S.V. (1995) Enzyme. Microbiological. Technology. London. P. 258–265.

- [6] Ajayi A.A., Osunlalu E.O., Peter-Albert C.F., Adejuwon A.O. (2014) Studies on pectinolytic and proteolytic enzymes from deteriorated grapes (*Vitis vinifera*), *Covenant Journal of Physical and Life Sciences*, 1(2): 1-15.
- [7] Bushina E.V., Korotkova O.G., Koshelev A.V., Nemashkalov V.A., Rozhkova A.M., Rubcova E.A., Sinicyn A.P. (2015) Novel preparations with high pectinase and hemicellulase activity based on *Penicillium canescens* strain [Novye fermentnye preparaty s vysokoy aktivnost'yu pektinaz i gemicellulaz na osnove shtammov-producentov *Penicillium canescens*] *Applied Biochemistry & Microbiology* [Prikladnaya biokhimiya i mikrobiologiya], 51(5): 502-511. DOI: 10.7868/S0555109915050141. (In Russian)
- [8] Nakkeeran E., Gowthaman M.K., Umesh-Kumar S., Subramanian R. (2010) Techno-economic analysis of processes for *Aspergillus carbonarius* polygalacturonase production, *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 113(5): 634-40. DOI: 10.1016/j.jbiosc.2011.12.021.
- [9] Blandino A., Iqbalsyah T., Pandiella S.S., Cantero D., Webb C. (2002) Polygalacturonase production by *Aspergillus awamori* on wheat in solid-state fermentation, *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 58(2):164-169. DOI: 10.1007/s00253-001-0893-4.
- [10] Gromovskiy I.T., Tyulpanova V.A., Gukasyan V.M., Shmarlovskaya S.V. (2002). Methods for isolating, studying and cultivating microorganisms [Metody vydeleniya, izucheniya i kultivirovaniya mikroorganizmov]. Krasnoyarsk: Siberian State Technical University [Krasnoyarsk: SibGTU]. 152 p. ISBN 5-8173-0003-6. (In Russian)
- [11] Radha S., Himakiran Babu R., Sridevi A., Prasad N. B. L., Narasimha G. (2012) Development of mutant fungal strains of *Aspergillus niger* for enhanced production of acid protease in submerged and solid state fermentation, *European Journal of Experimental Biology*, 2(5): 1517-1528. DOI: 10.1080/09593330.2012.701236
- [12] Ho H.L., Abduljubar M.H. (2016) Strain development of *Aspergillus brasiliensis* using physical and chemicals mutagenesis for possible overproduction of xylanase, amylase, protease and cellulase under submerged fermentation, *British Microbiology Research Journal*, 12(5): 1-19. DOI: 10.9734/BMRJ/2016/22953.
- [13] Blijeva R.K. (2013) New method of long-term fermentation and selection of enzyme-producing strains [Novyy metod dlitel'nogo kul'tivirovaniya i seleksii produktentov fermentov]. *Microbial biotechnologies: fundamental and applied aspects*: coll. Sci. Slave. Minsk: Publishing house «Belarusian science». P. 29-39. (In Russian)
- [14] Blijeva R.K. (1988) Biosynthesis of enzymes by aggregated and immobilized mycelium of micromycetes. *Microbiol. Biotechnol.* 3(2): 37-44.
- [15] Loginov I.A., Bril'kov A.V. (2003) Prospects of using continuous cultivation for rapid selection of microbial strain-destroyer of toxic pollutants. In international baikal symposium on microbiology (IBSM-2003) «Microorganisms in ecosystems of lakes, rivers and reservoirs». Irkutsk: Russia. P. 85-86.
- [16] Dzhakasheva M.A., Kedelbayev B.Sh. (2014) Getting the active strain of *Aspergillus awamori* – pectinase producer. *International journal of applied and fundamental research*, 11(4): 593-597.
- [17] Dzhakasheva M., Kedelbaev B., Lieberzeit P., Mutaliev B., Elemanova, A. Esimova Zh., Abubakirova A. (2016) Selection and characteristic of the *Aspergillus awamori* mutant strain – pectinase producers. ICITE – 2016: III international conference «Industrial technologies and engineering». Shymkent. P. 256-260.
- [18] GOST R 55298- 2012. Enzyme preparations for the food industry. Methods for determination of pectolytic activity [GOST R 55298-2012. Fermentnye preparaty dlya pishchevoy promyshlennosti. Metody opredeleniya pektoliticheskoy aktivnosti] Moscow, M.: Standartinform, 2014. (In Russian)
- [19] (2009) Enzyme preparations. The method for measuring β -glucanase, xylanase, cellulase activity [Preparaty fermentnye. Metodika vypolneniya izmereniy β -glyukanaznoy, ksilanaznoy, tsellyulaznoy aktivnostey]. Minsk: RUE "Bel. State. Institute of Metrology [Minsk: RUP «Bel. gos. in-t metrologii»]. 36 p. (In Russian)
- [20] Bioreactors [Fermentery i bioreaktory] (<http://bio-rus.ru/stati/fermentery-i-bioreaktory.html>). (In Russian)

М. Ә. Джақашева, А. А. Әбубәкірова, А. М. Есімова, Ж. Р. Елеманова, Р. А. Әбілдаева

М. Әуезов атындағы Оңтүстік Қазақстан мемлекеттік университеті, Шымкент, Қазақстан

ASPERGILLUS AWAMORI F-RKM 0719 МИЦЕЛИАЛЫҚ САҢЫРАУҚҰЛАҚТЫ КУЛЬТИВИРЛЕУДІҢ САЛЫСТЫРМАЛЫ САРАПТАМАСЫ

Аннотация. *Aspergillus awamori* F-RKM 0719 пектиназа штамм-продуцентін ұзақ мерзімді культивирлеу және тәсілдерді технологиялық өңдеумен бірнеше рет сынап көріп, алынған нәтиже көпсатылы селекциялау жұмыстары М.О.Әуезов атындағы Оңтүстік Қазақстан мемлекеттік университетінің «Биотехнология» кафедрасында жүргізілді. Микромицетті ұзақ уақытты және дәстүрлі үздікті культивирлеу тәсілдерінің салыстырмалы сараптары келтірілген. *A. awamori* F-RKM 0719 штаммын ұзақ мерзімді терең культивирлеу тәсілі кезінде адсорбциялау пенополиуретанды салуда пектиназаның биосинтезін 4,2 өсіреді, сонымен қатар культивирлеудің мерзімінің ұзақтығы 15 есе өседі ол үздіксіз культивирлеуді 1260 сағатты құрайды. Бірақ бұл тәсіл жаңа құрал-жабдықтарды өңдеуді қарастырады, себебі культивирлеу процессі стандартты емес шарттарда жүріп өтті, жүргізілген зерттеулерді негіздей отырып құрал-жабдықтың түрі нарықта жоқ болғандықтан арнайы жаңа ферменттер өндірілді. Салыстырмалы сараптамалардың нәтижесінде культивирлеудің дәстүрлі және жаңа түрі байқалды. *A. awamori* F-RKM 0719 адсорбциялау кезінде пенополиуретанды салу тиімсіз болды, себебі жаңа құрал-жабдықты өңдеу мен өндіруде сипаттамасы жағынан өте көп уақытты және экономикалық шығындарды қажет етеді. Сондықтан өндірістік жағдайда стандартты периодты культивирлеу тәсілдерді қолдануға кеңес береді.

Түйін сөздер: мицелиалық саңырауқұлақтар, *Aspergillus awamori*, пектолитикалық ферменттер, пектолитикалық белсенділігі, культивирлеу, иммобилизденген жасушалар, ферменттер, жаңа құрал-жабдық.