

**МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ
БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
БИОЛОГИЧЕСКИЙ ФАКУЛЬТЕТ
Кафедра микробиологии**

МУНТЯНОВА
Мария Владимировна

**ХАРАКТЕРИСТИКА МИЦЕЛИАЛЬНЫХ ГРИБОВ –
ПРОДУЦЕНТОВ ХОЛЕСТЕРОЛОКСИДАЗ**

Аннотация к магистерской диссертации

Научный руководитель:
кандидат биологических наук,
старший научный сотрудник Л.А. Жуковская

Минск, 2022

АННОТАЦИЯ

Объекты исследования: грибы родов *Aspergillus* и *Penicillium*, хранящиеся в коллекциях лаборатории ферментов и лаборатории «Коллекция микроорганизмов» Института микробиологии НАН Беларуси.

Цель работы: характеристика условий глубинного культивирования мицелиальных грибов-продуцентов холестеролоксидаз и свойств, синтезируемого ими фермента.

В результате проведенной работы было установлено, что наилучшими условиями для роста и синтеза холестеролоксидаз исследуемыми штаммами мицелиальных грибов родов *Aspergillus* и *Penicillium* являются температура 26°C и pH питательной среды 6,0-8,0. Добавление 2,5-5,0% мелассы в питательную среду при культивировании грибов рода *Aspergillus* приводило к увеличению холестеролоксидазной активности в 2,0 раза. Для исследованных штаммов грибов рода *Penicillium* максимальный уровень образования холестеролоксидаз происходил при добавлении в питательную среду 0,1% холестерина и начальном значении pH питательной среды 6,0-8,0.

При проведении концентрирования и очистки фильтрата культуральной жидкости отобранных штаммов мицелиальных грибов на ячейке для ультрафильтрации при помощи ультрафильтрационных мембран УПМ 10 и УПМ 20 установлено, что оптимальным является концентрирование на мембране УПМ 20 (скорость концентрирования – 0,8 мл/мин, потери – 0,37-6,0%).

Анализ основных свойств холестеролоксидаз показал, что для ферментов всех исследованных штаммов оптимальное значение pH – 7,0. Наиболее широким диапазоном значений pH-оптимума (4,0-9,0) характеризовался *P.chrysogenum*. Что касается pH-стабильности холестеролоксидаз исследуемых штаммов, то лучшим по данному показателю оказались ферменты *P. roquefortii* (диапазон значений pH составил от 2,0 до 10,0 с сохранением 13,9-100,0% ферментативной активности) и *A. niger* (остаточная активность составила 14,3-42,9 % в диапазоне pH 2,0-7,0). Холестеролоксидазы всех исследуемых штаммов выдерживают нагревание до 50°C в течение 1 ч, а температурный оптимум исследованных ферментов составляет 20-30°C.

**MINISTRY OF EDUCATION REPUBLIC OF BELARUS
BELARUSIAN STATE UNIVERSITY
BIOLOGICAL FACULTY
Microbiology department**

M.V.
MUNTSIANAVA

**CHARACTERISATION OF MYCELIAL FUNGI – PRODUCERS
OF CHOLESTEROL OXIDASES**

Abstract to the master of science thesis

Scientific supervisor:
candidate of biological sciences,
senior researcher Zhukouskaya L.A.

Minsk, 2022

ANNOTATION

Object of study: fungi of genera *Aspergillus* and *Penicillium* maintained in collection of laboratory of enzymes and deposited in Collection of microbial cultures Institute of Microbiology, NAS of Belarus.

Aim of study: investigation of conditions optimal for submerged fermentation of mycelial fungi – sources of cholesterol oxidases and properties of synthesized enzymes.

It was found as the result of completed research that the best conditions for growth and synthesis of cholesterol oxidases by the studied strains of fungi *Aspergillus* and *Penicillium* were achieved at temperature 26°C and pH of the nutrient medium 6,0-8,0. Addition of 2,5-5,0% melasses into the cultural medium of *Aspergillus* fungi increased 2-fold cholesterol oxidases activity. For the studied strains of *Penicillium* genus the maximum level of cholesterol oxidase production was recorded upon supply of 0,1% cholesterol into the nutrient medium at initial pH value 6,0-8,0.

Concentration and purification of cultural filtrates from the tested strains of mycelial fungi at ultrafiltration cell using membranes UPM 10 and UPM 20 has revealed the optimum condensation regime with UPM 20 membrane (condensation rate 0,8 ml/min, product losses 0,37-6,0%).

Analysis of major cholesterol oxidase properties proved that optimal pH for the action of all examined enzymes equals 7,0. *P. chrysogenum* is distinguished by the widest range of pH optimum (4,0-9,0).

As to pH stability of cholesterol oxidases, the leadership is had by enzymes of *P. roquefortii* (pH range for enzyme action from 2,0 to 10,0 with 13,9-100,0% retention of enzyme activity) and *A. niger* (residual activity 14,3-42,9 in pH interval 2,0-7,0).

Cholesterol oxidases of all studied cultures with stand heating up to 50°C during 1h while the temperature optimum for fungal enzymes varies from 20°C to 30°C.

**МІНІСТЭРСТВА АДУКАЦЫІ РЭСПУБЛІКІ БЕЛАРУСЬ
БЕЛАРУСКІ ДЗЯРЖАЎНЫ ЎНІВЕРСІТЭТ
БІЯЛАГІЧНЫ ФАКУЛЬТЭТ
Кафедра мікрабіялогіі**

МУНЦЯНАВА
Марыя Уладзіміраўна

**ХАРАКТАРЫСТЫКА МІЦЭЛІЯЛЬНЫХ ГРЫБОЎ –
ПРАДУЦЭНТАЎ ХАЛЕСТЭРОЛАКСІДАЗ**

Анатацыя да магістарскай дысертацыі

Навуковы кіраўнік:
кандыдат біялагічных навук,
старшы навуковы супрацоўнік Л.А. Жукоўская

Мінск, 2022

АНАТАЦЫЯ

Аб'екты даследавання: грыбы родаў *Aspergillus* і *Penicillium*, якія захоўваюцца ў калекцыях лабараторыі ферментаў і лабараторыі "Калекцыя мікраарганізмаў" Інстытута мікрабіялогіі НАН Беларусі.

Мэта работы: характарыстыка ўмоў глыбіннага культывавання міцэліяльных грыбоў-прадукцэнтаў халестэролаксідаз і ўласцівасцяў ферменту, які сінтэзуецца дадзенымі грыбамі.

У выніку выкананай працы было ўстаноўлена, што найлепшымі ўмовамі для росту і сінтэзу халестэролаксідаз даследаванымі штамамі міцэліяльных грыбоў родаў *Aspergillus* і *Penicillium* з'яўляюцца тэмпература 26°C і pH пажыўнога асяроддзя 6,0-8,0. Даданне 2,5-5,0% меласы ў пажыўное асяроддзе пры культываванні грыбоў роду *Aspergillus* прыводзіла да павелічэння халестэролаксідазнай актыўнасці ў 2,0 разы. Для даследаваных штамаў грыбоў роду *Penicillium* максімальны ўзровень прадукцыі халестэролаксідаз адбываўся пры даданні ў пажыўное асяроддзе 0,1% халестэрыну і пачатковым значэнні pH пажыўнога асяроддзя 6,0-8,0.

Пры правядзенні канцэнтравання і ачысткі фільтрата культуральнай вадкасці адабраных штамаў міцэліяльных грыбоў на ячэйцы для ультрафільтрацыі пры дапамозе ультрафільтрацыйных мембран УПМ 10 і УПМ 20 устаноўлена, што аптымальным з'яўляецца канцэнтраванне на мембране УПМ 20 (хуткасць канцэнтравання – 0,8 мл/мін, страты – 0,37-6,0%).

Аналіз асноўных уласцівасцяў халестэролаксідаз паказаў, што для ферментаў усіх даследаваных штамаў аптымальнае значэнне pH – 7,0. Найбольш шырокім дыяпазнам значэнняў pH-оптымуму (4,0-9,0) характарызаваўся *P. chrysogenum*. Што тычыцца pH-стабільнасці халестэролаксідаз даследаваных штамаў, то лепшымі па дадзеным паказчыку апынуліся ферменты *P. roquefortii* (дыяпазон значэнняў pH склаў ад 2,0 да 10,0 з захаваннем 13,9-100,0% ферментатыўнай актыўнасці) і *A. niger* (рэшткавая актыўнасць склала 14,3-42,9% у дыяпазоне pH 2,0-7,0). Халестэролаксідазы ўсіх даследаваных штамаў вытрымліваюць награванне да 50°C на працягу 1 г, а тэмпературны оптымум даследаваных ферментаў складае 20-30°C.