



МИКРОБНЫЕ БИОТЕХНОЛОГИИ: ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ И ПРИКЛАДНЫЕ АСПЕКТЫ



2019

Материалы
XI Международной
научной конференции

Минск, 3–6 июня 2019 г.

НАЦИОНАЛЬНАЯ АКАДЕМИЯ НАУК БЕЛАРУСИ
Отделение биологических наук
ГНПО «Химический синтез и биотехнологии»
Институт микробиологии
Белорусское общественное объединение микробиологов

МИКРОБНЫЕ БИОТЕХНОЛОГИИ: ФУНДАМЕНТАЛЬНЫЕ И ПРИКЛАДНЫЕ АСПЕКТЫ

Материалы
XI Международной научной конференции

Минск, 3–6 июня 2019 г.

Минск
«Беларуская навука»
2019

УДК 606:579.6(043.2)

ББК 30.16я43

M59

Организационный комитет конференции:

Э. И. Коломиец (председатель), Н. В. Сверчкова (заместитель председателя),
А. В. Сидоренко (секретарь), З. М. Алещенкова, Л. Н. Валентович,
Е. М. Глушень, А. И. Зинченко, А. Г. Лобанок,
Т. В. Романовская, Т. В. Семашко

Микробные биотехнологии : фундаментальные и прикладные аспекты :
M59 материалы XI Междунар. науч. конф. (Минск, 3–6 июня 2019 г.) / орг. ком.
конф.: Э. И. Коломиец (председатель) и [др.]. – Минск : Беларуская навука,
2019. – 281 с.

ISBN 978-985-08-2453-0.

В сборнике представлены материалы выступлений участников XI Международной научной конференции «Микробные биотехнологии: фундаментальные и прикладные аспекты» по следующим направлениям: физиология, биохимия и генетика микроорганизмов; микробный синтез биологически активных соединений, генно-инженерное конструирование микроорганизмов, коллекции микроорганизмов; биотехнологии для сельского хозяйства; биотехнологии для медицины и промышленности; природоохранные биотехнологии. Представляет интерес для специалистов в области микробиологии и биотехнологии.

УДК 606:579.6(043.2)

ББК 30.16я43

ISBN 978-985-08-2453-0

© Институт микробиологии НАН Беларуси, 2019

© Оформление. РУП «Издательский дом
«Беларуская навука», 2019

Выделение, очистка и характеристика молокосвертывающих протеиназ из культуральной жидкости *Pleurotus ostreatus*

Сакович В.В., Жерносеков Д.Д.

Полесский государственный университет, Пинск, Беларусь,
электронный адрес: mrs.valeryia@mail.ru

Протеолитические ферменты широко используются в молочной промышленности (сыроделии), в качестве сычужных ферментных препаратов. Замена дорогостоящего сычужного фермента грибными протеазами специфического действия экономически выгодна и перспективна. Уровень активности молокосвертывающих ферментов базидиальных грибов сопоставим с активностью коммерческих препаратов, традиционно используемых для приготовления сыров. В литературе имеются данные, что экстракт плодовых тел *P. ostreatus* имеет сходство с препаратами, используемыми в молочной промышленности [1].

Материалы и методы. Использовали глубинную культуру *P. ostreatus*. Концентрацию белка определяли спектрофотометрически [2]. За единицу молокосвертывающей активности принимали количество фермента, сворачивающее 100 мл молока за 40 мин при 35°C [3]. Общую протеолитическую активность определяли по лизису желатина в тонком слое агарового геля [4]. Для первичной очистки применялся метод высаливания с использованием хлорида натрия. Для удаления соли применялся метод диализа. Дальнейшую очистку проводили на колонке с DEAE-сепарозой (1,5 X 3) (Bio-Rad, США).

Результаты и выводы. При высаливании культуральной жидкости сохранилась практически вся исходная молокосвертывающая активность. При хроматографии на DEAE-сепарозе фермент, обладающий молокосвертывающей активностью, практически весь выходит в промывной фракции, при этом достигается его очистка в 22.7 раза. Данный этап очистки предлагаем использовать в сыророделии на этапе образования сырного сгустка.

При исследовании влияния pH на протеолитическую активность было установлено, что протеолитическая активность ферментного препарата сохранялась во всем исследуемом диапазоне pH от 3,6 до 8,0. При этом pH оптимум протеолитической активности находится при значении pH 7,0. По сравнению с протеолитической активностью молокосвертывающая активность ферментного препарата наблюдалась в более узком диапазоне pH от 3,6 до 5,6. Следует отметить, что pH оптимум молокосвертывающей активности представлен двумя пиками при pH 3,6 и pH 5,0. Однако, при практическом использовании препарата, обладающего МСА, мы рекомендуем использовать

pH среды (буфера) со значением 3,6, так как при данном значении pH соотношение МСА/ПА составляет 74:1. При pH 5 соотношение МСА/ПА составляет 13:1. При высокой протеолитической активности, что наблюдается при pH 5 полученные сгустки часто имеют горький вкус, что негативно сказывается на качестве сырной продукции

Таблица 1 – Соотношение молокосвертывающей к протеолитической активности

| pH | Белок мг/мл | Общая МСА | Удельная МСА | Общая ПА | Удельная ПА | МСА/ПА |
|-----|----------------|--------------|-----------------|-------------|----------------|--------|
| 3,6 | 1,07 | 81,08 | 75,78 | 1,09 | 1,02 | 74:1 |
| 5,0 | 1,07 | 80 | 74,77 | 6,32 | 5,91 | 13:1 |

Температурные оптимумы для ПА и МСА оказались разными. Протеолитическая активность ферментного препарата из *P.ostreatus* наблюдалась во всем исследуемом диапазоне температур от 25 до 60°C. При этом температурный оптимум протеолитической активности находится при 45°C. Максимальная молокосвертывающая активность наблюдается при температуре 35°C.

Таким образом, частично очищенный препарат охарактеризован для промышленного использования: pH 3,6; температура 35°C; частично очищенный препарат имеет преимущество перед высоко очищенным, благодаря его стабильности.

Литература

- Emmanuel, V. PontualBelany, E. CarvalhoRanilson, S. Ranilson, C. BezerraLuana, B.B. Coelho, M.G. Caseinolytic and milk-clotting activities from *Moringaoleifera* flowers. Food Chemistry, 2012, Vol. 135. No. 6, 1848-1854
- Рудакова Н.Л. Секретируемая металлопротеиназа *Bacillus intermedius*: получение гомогенного препарата фермента и исследование физико-химических свойств. Ученые записки казанского государственного университета, 2010, Т.40, кн.2, С. 145-154.
- ГОСТ ISO 11815-2015. Молоко. Определение общей молокосвертывающей активности говяжьего сычужного фермента. М.: Стандартформ, 2015. 10 с.
- Leighton TJ, Doi RH, Warren RAJ, Kelln RA. The relationship of serine protease activity to RNA polymerase modification and sporulation in *Bacillus subtilis*. J. Mol. Biol. 76, 1973, 103-122.

| | |
|--|------------|
| Влияние лиофилизации на жизнеспособность дрожжевых грибов <i>Cryptococcus flavesiens</i> и <i>Rhodotorula species</i> , выращенных в средах различного состава Щетко В.А., Гапонова И.И., Кулиш С.А., Сапунова Л.И., Романова Л.В., Ерхова Л.В., Макаревич О.В. | 199 |
| Секция 4 Биотехнологии для медицины и промышленности | 201 |
| Production and antimicrobial properties of peptides derived from recombinant human lactoferrin-containing whey protein concentrate of transgenic goat origin Hubchyk K., Kastsianevich A..... | 202 |
| Production and antimicrobial properties of peptides derived from recombinant human lactoferrin of transgenic goat origin Kastsianevich A., Hubchyk K..... | 204 |
| Development of new approaches for waste-less simultaneous production of bioethanol and other valuable products from colza straw Rozenfelde L., Vedernikov N., Puke M., Kruma I., Khroustalyova G., Zala D., Raporot A..... | 206 |
| Испытания стойкости финишных покрытий системы утепления фасадов «Caparol» на основе минеральной ваты к воздействию плесневых грибов Арашкова А.А., Тригубович А.М., Кособуцкая О.Н., Пирогов К.В., Летунович Е.А. | 207 |
| Эффективность полиенового антибиотика розеофунгина в отношении возбудителей кандидозного вульвовагинита Балгимбаева А.С., Ибрагимова Л.Н., Треножникова Л.П., Турлыбаева З.Ж., Султанова А.Ж., Тугелбай Г.Е., Галимбаева Р.Ш., Есіркепұлы М..... | 209 |
| Использование бактериальной фосфолипазы D для синтеза липонуклеотидов Биричевская Л.Л., Винтер М.А., Сивец Г.Г., Михайлопуло И.А., Зинченко А.И. | 211 |
| Получение 5'-фосфатидил-2-хлор-2'-фтораденинарабинозида с использованием бактериальной фосфолипазы D Биричевская Л.Л., Сивец Г.Г., Артемьева Ю.Н., Михайлопуло И.А., Зинченко А.И. | 213 |
| Биотехнологический аспект зависимости уровня стрептококков в кишечнике от состояния здоровья организма Богдан В.К., Тимошко М.А., Велчу А.И..... | 216 |
| Создание генетической конструкции для получения штамма-продуцента пуринуклеозидфосфорилазы, слитой с аннексином-А5 Булатовский А.Б., Казловский И.С., Зинченко А.И. | 218 |
| Ферментация как перспективный способ технологической обработки коровьего молозива Головач Т.Н., Асафов В.А., Харитонов В.Д., Танькова Н.Л., Романович Р.В., Курченко В.П..... | 220 |
| Перспективы использования рекомбинантных ферментов микроорганизмов и модифицированных компонентов нуклеиновых кислот для терапии рака Зинченко А.И..... | 223 |
| Влияние микроудобрений на антирадикальную активность экстрактов ксилотрофных базидиомицетов Коваленко С.А., Бордок И.В., Ковзунова О.В..... | 225 |
| Изменение поверхностного слоя полиамидных волокон бактериями-деструкторами Комаровская Я.В., Козячая Т.И., Тарасюк О.А., Юхневич Г.Г., Бурдь В.Н. | 228 |

| | |
|--|------------|
| Сравнительный анализ тест-систем для выделения нуклеиновых кислот из мокроты Костюк С.А., Полуян О.С., Руденкова Т.В., Глинкина Т.В., Симирский В.В. | 230 |
| Преимущества использования препарата бактерий <i>Bacillus amyloliquefaciens</i> для улучшения технологических показателей белорусских глин в производственных условиях Маркевич Р.М., Якимович Л.В. | 232 |
| Оценка микробиологических показателей хлеба на основе продукта ферментированного горохового безглютенового Нелибина Е.В., Урбанчик Е.Н., Сапунова Л.И., Каминская О.С., Тамкович И.О., Шляхотко Е.А. | 234 |
| Искусственное выращивание лекарственного гриба <i>Lentinus edodes</i> на разных средах Пушкарская О.В., Жебрак И.С. | 236 |
| Технологические аспекты биосинтеза полиенового антибиотика розеофунгина в ферментаторе Саданов А.К., Треножникова Л.П., Балгимбаева А.С., Березин В.Э., Кулмагамбетов И.Р. | 238 |
| Разработка биосенсоров для детекции глюкозы на основе наноструктурированного графита Семашко Т.В., Жуковская Л.А., Демешко О.Д., Михаленок Е.В., Бельская А.И., Бусла А.П. | 240 |
| Антимикробное действие дезинфицирующих препаратов на супензированные клетки и биопленки Сикор А.Н., Юхневич Г.Г. | 242 |
| Выделение, очистка и характеристика молокосвертывающих протеиназ из культуральной жидкости <i>Pleurotus ostreatus</i> Сакович В.В., Жерносеков Д.Д. | 244 |
| Секция 5 Природоохранные биотехнологии..... | 246 |
| Выделение и скрининг микроорганизмов-деструкторов ксиола и толуола Алешкевич И.И., Петрова Г.М., Глушень Е.М. | 247 |
| Изучение термотolerантных микроорганизмов, выделенных из почв Западного Казахстана Айткельдиева С.А., Файзулина Э.Р., Аузова О.Н., Татаркина Л.Г., Спанкулова Г.А.... | 249 |
| Выделение галотолерантных бактерий для стимуляции роста растений в условиях засоления почвы Евенкова-Чернецова К.И., Алещенкова З.М., Ананьева И.Н., Сафонова Г.В., Наумович Н.И. | 251 |
| Гидроксилированные полихлорированные бифенилы – как источник углерода для штамма <i>Rhodococcus wratislavensis</i> KT112-7 Егорова Д.О., Горбунова Т.И., Первова М.Г. | 253 |
| Биосинтез наночастиц серебра различными микроорганизмами Зайнидинова Л.И., Куanova С.И., Жураева Р.Н., Лобанова И.В., Вохидова Н. | 255 |
| Бактериальная деградация трибенурон-метила – гербицида класса сульфонилмочевины Крючкова Е.В., Муратова А.Ю., Турковская О.В. | 257 |