

**ISSN 2518-1483 (Online),
ISSN 2224-5227 (Print)**

2020 • 2

**ҚАЗАҚСТАН РЕСПУБЛИКАСЫ
ҰЛТТЫҚ ҒЫЛЫМ АКАДЕМИЯСЫНЫң**

БАЯНДАМАЛАРЫ

ДОКЛАДЫ

**НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК
РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН**

REPORTS

**OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES
OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN**

PUBLISHED SINCE 1944



ALMATY, NAS RK

Бас редакторы
х.ғ.д., проф., ҚР ҰҒА академигі
М.Ж. Жұрынов

Редакция алқасы:

Адекенов С.М. проф., академик (Қазақстан) (бас ред. орынбасары)
Величкин В.И. проф., корр.-мүшесі (Ресей)
Вольдемар Вуйчик проф. (Польша)
Гончарук В.В. проф., академик (Украина)
Гордиенко А.И. проф., академик (Белорус)
Дука Г. проф., академик (Молдова)
Илолов М.И. проф., академик (Тәжікстан)
Кригер Виктор проф. (Германия)
Леска Богуслава проф. (Польша)
Локшин В.Н. проф., чл.-корр. (Қазақстан)
Нараев В.Н. проф. (Ресей)
Неклюдов И.М. проф., академик (Украина)
Нур Изура Уззири проф. (Малайзия)
Перни Стефано проф. (Ұлыбритания)
Потапов В.А. проф. (Украина)
Прокопович Полина проф. (Ұлыбритания)
Омбаев А.М. проф., корр.-мүшесі (Қазақстан)
Өттелбаев М.О. проф., академик (Қазақстан)
Садыбеков М.А. проф., корр.-мүшесі (Қазақстан)
Сатаев М.И. проф., корр.-мүшесі (Қазақстан)
Северский И.В. проф., академик (Қазақстан)
Сикорски Марек проф., (Польша)
Рамазанов Т.С. проф., академик (Қазақстан)
Такибаев Н.Ж. проф., академик (Қазақстан), бас ред. орынбасары
Харин С.Н. проф., академик (Қазақстан)
Чечин Л.М. проф., корр.-мүшесі (Қазақстан)
Харун Парлар проф. (Германия)
Энджун Гао проф. (Қытай)
Эркебаев А.Ә. проф., академик (Қыргыстан)

«Қазақстан Республикасы Ұлттық ғылым академиясының баяндамалары»
ISSN 2518-1483 (Online),
ISSN 2224-5227 (Print)

Меншіктенуші: «Қазақстан Республикасының Ұлттық ғылым академиясы» Республикалық қоғамдық бірлестігі (Алматы қ.).
Қазақстан республикасының Мәдениет пен ақпарат министрлігінің Ақпарат және мұрагат комитетінде 01.06.2006 ж.
берілген №5540-Ж мерзімдік басылым тіркеуіне қойылу туралы куәлік.

Мерзімділігі: жылдан 6 рет.

Тиражы: 500 дана.

Редакцияның мекенжайы: 050010, Алматы қ., Шевченко көш., 28; 219, 220 бөл.; тел.: 272-13-19, 272-13-18,
<http://reports-science.kz/index.php/en/archive>

© Қазақстан Республикасының Ұлттық ғылым академиясы, 2020

Типографияның мекенжайы: «NurNaz GRACE», Алматы қ., Рысқұлов көш., 103.

ДОКЛАДЫ
НАЦИОНАЛЬНОЙ АКАДЕМИИ НАУК
РЕСПУБЛИКИ КАЗАХСТАН

2020 • 2

Г л а в н ы й р е д а к т о р
д.х.н., проф., академик НАН РК
М. Ж. Журинов

Р е д а к ц и о н н а я к о л л е г и я:

Адекенов С.М. проф., академик (Казахстан) (зам. гл. ред.)
Величкин В.И. проф., чл.-корр. (Россия)
Вольдемар Вуйчик проф. (Польша)
Гончарук В.В. проф., академик (Украина)
Гордиенко А.И. проф., академик (Беларусь)
Дука Г. проф., академик (Молдова)
Илолов М.И. проф., академик (Таджикистан)
Кригер Виктор проф. (Германия)
Леска Богуслава проф. (Польша)
Локшин В.Н. проф., чл.-корр. (Казахстан)
Нараев В.Н. проф. (Россия)
Неклюдов И.М. проф., академик (Украина)
Нур Изура Удзир проф. (Малайзия)
Перни Стефано проф. (Великобритания)
Потапов В.А. проф. (Украина)
Прокопович Полина проф. (Великобритания)
Омбаев А.М. проф., чл.-корр. (Казахстан)
Отелбаев М.О. проф., академик (Казахстан)
Садыбеков М.А. проф., чл.-корр. (Казахстан)
Сатаев М.И. проф., чл.-корр. (Казахстан)
Северский И.В. проф., академик (Казахстан)
Сикорски Марек проф., (Польша)
Рамазанов Т.С. проф., академик (Казахстан)
Такибаев Н.Ж. проф., академик (Казахстан), зам. гл. ред.
Харин С.Н. проф., академик (Казахстан)
Чечин Л.М. проф., чл.-корр. (Казахстан)
Харун Парлар проф. (Германия)
Энджун Гао проф. (Китай)
Эркебаев А.Э. проф., академик (Кыргызстан)

Доклады Национальной академии наук Республики Казахстан»

ISSN 2518-1483 (Online),

ISSN 2224-5227 (Print)

Собственник: Республиканское общественное объединение «Национальная академия наук Республики Казахстан» (г. Алматы).

Свидетельство о постановке на учет периодического печатного издания в Комитете информации и архивов Министерства культуры и информации Республики Казахстан №5540-Ж, выданное 01.06.2006 г.

Периодичность: 6 раз в год.

Тираж: 500 экземпляров

Адрес редакции: 050010, г.Алматы, ул.Шевченко, 28; ком. 219, 220; тел. 272-13-19, 272-13-18,
<http://reports-science.kz/index.php/en/archive>

© Национальная академия наук Республики Казахстан, 2020 г.

Адрес типографии: «NurNaz GRACE», г. Алматы, ул. Рыскулова, 103.

REPORTS

2020 • 2

OF NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE
REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

E d i t o r i n c h i e f

doctor of chemistry, professor, academician of NAS RK

M.Zh. Zhurinov

E d i t o r i a l b o a r d:

Adekenov S.M. prof., academician (Kazakhstan) (deputy editor in chief)

Velichkin V.I. prof., corr. member (Russia)

Voitsik Valdemar prof. (Poland)

Goncharuk V.V. prof., academician (Ukraine)

Gordiyenko A.I. prof., academician (Belarus)

Duka G. prof., academician (Moldova)

Ilolov M.I. prof., academician (Tadzhikistan)

Krieger Viktor prof. (Germany)

Leska Boguslava prof. (Poland)

Lokshin V.N. prof., corr. member (Kazakhstan)

Narayev V.N. prof. (Russia)

Nekludov I.M. prof., academician (Ukraine)

Nur Izura Udzir prof. (Malaysia)

Perni Stephano prof. (Great Britain)

Potapov V.A. prof. (Ukraine)

Prokopovich Polina prof. (Great Britain)

Ombayev A.M. prof., corr. member (Kazakhstan)

Otelbayev M.O. prof., academician (Kazakhstan)

Sadybekov M.A. prof., corr. member (Kazakhstan)

Satayev M.I. prof., corr. member (Kazakhstan)

Severskyi I.V. prof., academician (Kazakhstan)

Sikorski Marek prof., (Poland)

Ramazanov T.S. prof., academician (Kazakhstan)

Takibayev N.Zh. prof., academician (Kazakhstan), deputy editor in chief

Kharin S.N. prof., academician (Kazakhstan)

Chechin L.M. prof., corr. member (Kazakhstan)

Kharun Parlar prof. (Germany)

Endzhun Gao prof. (China)

Erkebayev A.Ye. prof., academician (Kyrgyzstan)

Reports of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan.

ISSN 2224-5227

ISSN 2518-1483 (Online),

ISSN 2224-5227 (Print)

Owner: RPA "National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan" (Almaty).

The certificate of registration of a periodic printed publication in the Committee of Information and Archives of the Ministry of Culture and Information of the Republic of Kazakhstan N 5540-ЖК, issued 01.06.2006.

Periodicity: 6 times a year.

Circulation: 500 copies.

Editorial address: 28, Shevchenko str., of. 219, 220, Almaty, 050010, tel. 272-13-19, 272-13-18,
<http://reports-science.kz/index.php/en/archive>

© National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan, 2020

Address of printing house: «NurNaz GRACE», 103, Ryskulov str, Almaty.

**REPORTS OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES
OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN**

ISSN 2224-5227

Volume 2, Number 330 (2020), 36 – 40

<https://doi.org/10.32014/2020.2518-1483.29>

UDC 579.873.71.017.7

**R.K. Blieva¹, A.K. Kalieva²,
Zh.B. Suleimenova¹, A.S. Zhakipbekova¹, I.E. Tapenbayeva¹**

¹RPE Co “Antigen”, Almaty, Kazakhstan;

²Aktobe Regional State University named after K. Zhubanov, Kazakhstan.

E-mail: raubil@mail.ru

**SCREENING OF *ASPERGILLUS FUNGI* FOR EXTRA CELLULAR
PROTEASE AND COLLAGENASE PRODUCTION**

Abstract. Protease and collagenase are the most important enzymes used for the processing of meat raw materials. In the meat industry, proteolytic enzymes are used to accelerate the maturation of meat and increase its yield. The use of enzyme preparations in meat processing makes it possible to rationally use meat raw materials, intensify technological processes, improve quality and expand the range of products. Collagenase, unlike protease, acts on those connective proteins of meat raw materials that determine its stiffness, breaking down hard-hydrolyzable and non-digestible collagen. The aim of this study was selection of strains of industrially valuable micromycetes from the collection of micromycetes that have the ability to synthesize extracellular protease and collagenase and create a fungal association. A comparative characterization of 7 strains of micromycetes of the genus *Aspergillus* and *Penicillium* - potential producers of protease and collagenase enzymes, was carried out. *A. awamori* 16 and *A. awamori* 22 showed the highest clearance zones and was used for further studies. The clearance zones of casein of *A. awamori* 16 on day 5 were 22.8 mm, and collagen 20.8 mm, while the clearance zones of casein of *A. awamori* 22 were 20.1 mm, and collagen - 19.1 mm.

Keywords: *Aspergillus*, enzymes, protease, collagenase.

Introduction. Nowadays, the meat processing industry is developing new recipes and technologies using secondary meat and other food raw materials containing a sufficient amount of proteins, fats, vitamins and trace elements. In this regard, it is of great interest to use enzymes that allow the rational use of protein resources, increase the biological value of meat dishes by increasing the proportion of collagen proteolysis products – the fibrillar protein that forms the basis of connective tissue [1-3]. The use of enzyme preparations positively affects the tenderness, juiciness, nutritional value of meat raw materials, the formation of the required level of water-binding and adhesive ability, improves its organoleptic characteristics due to the targeted effect of enzymatic complexes on the components of muscle tissue [4-6].

The use of enzyme preparations in the production of meat products makes it possible to rationally use raw meat, to intensify technological processes, improve quality and expand the range of products. Of greatest interest for the processing of raw meat are the enzymes protease and collagenase. Recently, a search for microorganisms capable of intensive synthesis of these enzymes has been actively conducted. The producers of these enzymes were found among *Actinomyces rimosus*, *Streptomyces griseus*, *Actinomyces fradiae*, etc. [7-10]. The proteolytic enzymes of bacteria of the genus *Bacillus* were studied. [11, 12]. Despite the fact that among microorganisms producing protease and collagenase bacteria, fungi, yeast and actinomycetes are noted, micromycetes have recently become widespread due to the ease of their cultivation and high productivity. The preparations from micromycetes of the genus *Aspergillus*, *Penicillium*, and others are successfully used [13-15].

In this regard, the selection of active strains of micromycetes – producers of enzymes and the creation based on an associative culture that will have both protease and collagenase activity.

Materials and Methods. The objects of research were micromycetes of the genus *Aspergillus* and *Penicillium* from own collection of microorganisms. The research work was conducted using accepted microbiological and biochemical research methods. The initial cultures were grown on potato – dextrose

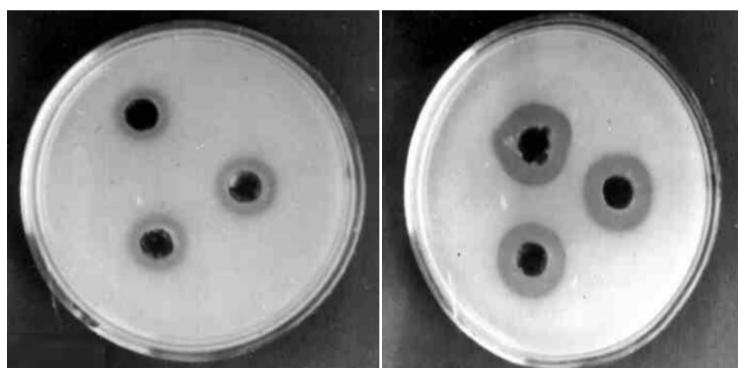
agar for 5 days at a temperature of 30 °C. The primary selection of the culture according to the level of protease formation was carried out by a qualitative method by measuring the diameter of the clarification (hydrolysis) zones of the substrate by the cultures under study for 3-5 days of incubation (in mm) at 30 °C. Skim milk with agar was used as a substrate [16].

The primary selection of producers of collagen-cleaving enzymes was carried out in Petri dishes on Chapek-Doks medium containing purified collagen as a substrate [17]. The ability of the culture to hydrolyze the substrate was evaluated by the size of the zones of substrate hydrolysis on the 5th day of growth.

Proteolytic activity (PA) was determined according to GOST 20264.2-88 [18]. The amount of enzyme that catalyzes the hydrolysis of 1 g of protein in 30 minutes under standard conditions to products not precipitated with trichloracetic acid was taken as a unit of proteolytic activity.

Collagenase activity was determined in the culture fluid filtrates using the method based on spectrophotometric determination of free amino acids formed during collagen hydrolysis using the ninhydrin reagent [19]. A collagen suspension was obtained by incubating the substrate in a buffer solution at 370 for 1 day. A buffer was prepared at pH 7.4, which contained Na₂HPO₄ (1.76 g/L), NaCl (8.8 g/L) in 1L of distilled water in the presence of 0.2 μM CaCl₂. In order to determine collagenase activity, 1 ml of a collagen suspension was poured into a 1 ml experimental sample and the mixture was incubated at 370 for 18 h, after which 1 ml was taken from the incubation mixture and 2 ml of ninhydrin reagent (fresh prepared 2% ninhydrin in acetone) were added to it. It was held for 20 minutes at 1000, the volume of each sample was adjusted to 10 ml with distilled water, and the optical density was measured on a spectrophotometer at 600 nm.

Results and Discussion. A search for protease and collagenase producers was carried out among microscopic fungi of the genus *Aspergillus* and *Penicillium*, known as potential producers of the studied enzymes. For this purpose, a comparative characterization of 7 strains from our own collection of microorganisms was carried out – *Aspergillus awamori* 16, *Aspergillus awamori* 22, *Aspergillus awamori* 21/96, *Aspergillus oryzae* 3-9-15, *Aspergillus niger* P, *Aspergillus foetidus* and *Penicillium chrysogenum* 241. The substrate was evaluated by the size of the zones of enlightenment on the 5th day of growth (picture).



Casein clearing zone assay

The clear zone formation concerns the ability of colonies with confirmed casein hydrolysis, i.e. with the ability to synthesize an enzyme. The larger the hydrolysis zone, the more actively the culture forms an enzyme. The data obtained are presented in table 1.

According to the Table 1, the strains *A. awamori* 16 and *A. awamori* 22 were the most active in the ability to split casein and collagen. The hydrolysis zones of casein *A. awamori* 16 for 5 days were 22.8 mm, and collagen 20.8 mm, while the hydrolysis zones of casein *A. awamori* 22 amounted to 20.1 mm, and collagen – 19.1 mm. The strains of *A. oryzae* 3-9-15 and *A. niger* P, which did not produce substrate cleavage zones, had the least enzymatic activity. In order to determine the activity of protease and collagenase by selected cultures of *A. awamori* 16 and *A. awamori* 22, they were cultured under submerged conditions on a liquid nutrient medium. After 3 days, the activity of extracellular protease and collagenase was determined (table 2).

Table 1 – Selection of the active variant – producer of protease and collagenase

Culture	Diameter of Casein cleavage zones (mm)	Diameter of Collagen cleavage zones (mm)
<i>Aspergillus awamori</i> 16	22,8±1,7	20,8±2,0
<i>Aspergillus awamori</i> 22	20,1±1,3	19,1±1,5
<i>Aspergillus awamori</i> 21/96	16,3±2,0	13,3±1,9
<i>Aspergillus oryzae</i> 3-9-15	0	16,9±1,9
<i>Aspergillus nige</i> rII	0	0
<i>Aspergillus foetidus</i>	11,5±1,4	11,3±1,2
<i>Penicillium chrysogenum</i> 241	11,2±1,7	12,8±1,8
Control	0	0

Table 2 – Enzymatic activity of monocultures and fungal association

Culture	Protease Activity, U/ml	Collagenase activity, U/ml
<i>A. awamori</i> 16	3,4±0,5	4,6±0,8
<i>A. awamori</i> 22	3,0±0,6	4,3±0,7
Association <i>A. awamori</i> 16 and <i>A. awamori</i> 22	4,2±0,6	6,8±0,8

The next stage of the research was the creation of an association of selected strains of *A. awamori* 16 and *A. awamori* 22 – producers of proteolytic and collagen-cleaving enzymes. For this purpose, a joint cultivation of selected producers in a liquid nutrient medium was carried out in deep growth conditions. After 3 days, the activity of extracellular protease and collagenase associative culture was determined. The data obtained are presented in table 2.

According to the data presented in Table 2, the association of micromycetes, consisting of *A. awamori* 16 and *A. awamori* 22 forms proteolytic and collagen degrading enzymes more actively than their monocultures. Thus, the resulting associative culture is the starting point for its further study in order to obtain an active enzyme preparation for the meat processing industry.

**Р.К. Блиева¹, А.К. Калиева², Ж.Б. Сулейменова¹,
А.С. Жакипбекова¹, И.Е. Тапенбаева¹**

¹ЖШС «Антиген FӨК», Алматы, Қазақстан;

²Қ. Жұбанов атындағы Ақтөбе өнірлік мемлекеттік университеті, Қазақстан

ПРОТЕАЗА ЖӘНЕ КОЛЛАГЕНАЗА ПРОДУЦЕНТИ ASPERGILLUS-ТЕКТІ МИКРОМИЦЕТТЕР СКРИНИНГІ

Аннотация. Ет өңдеу өнеркәсібінде колданылатын ферменттік препараттардың ішінде протеаза мен коллагеназа ет және ет өнімдерінің консистенциясын жақсарту үшін пайдаланылатын негізгі ферменттер тобына жатады. Ет өнеркәсібінде протеолитикалық ферменттер еттің пісіп жетілуін жеделдету және оның шығуын арттыру үшін колданылады. Коллагеназаның протеазадан айырмашылығы – ыдырауы қын және сінірлімейтін коллагенді ыдыратса отырып, оның қаттылығын анықтайтын ет шикізатының сол дәнекер ақуыздарына әсер етеді. Соңғы уақытта екі немесе одан да көп штамдардан тұратын препараттар жиі қолданылады. Өйткені бір микроорганизм табиғи шикізатты биодеструкциялау үшін қажетті ферментативтік белсенділіктің барлық спектріне ие бола алмайды. Пайдаланылатын субстраттар спектрі бойынша, ерекшеленетін екі штамды колдану ет шикізатының, есіресе, оның тәменгі бөлігінің қаттылығын анықтайтын дәнекер тіннің толық бұзылуына әкелу мүмкін. Консорциумда бірнеше штамдарды бірлесіп пайдалану кезінде, олардың әсері қүшейеді. Осыған байланысты, бұл зерттеудің мақсаты – коллекциялық культуралардың ішінен жасушадан тыс протеаза мен коллагеназаны синтездеу қабілетіне ие өнеркәсіптік-құнды микромицет штамдарын іріктеу және олардың негізінде қауымдастырылған культураны құру. Протеаза және коллагеназа ферменттерінің продуценттері – *Aspergillus* және *Penicillium* текстес микромицеттердің 7 штамына салыстырмалы сипаттама жүргізілді. Культураның субстратты гидролиздеу қабілеті 5-тәулікте ағару аймағының көлемі бойынша бағаланды. Ағару аймағы көп болған сайын, культура соғурылым ферментті белсенді түзеді. Культураны протеазаны түзу деңгейі бойынша бастапқы іріктеу

өсірудін 3-5 тәулігінде 30 °C жағдайында субстратты агарту аймағының (гидролиз) диаметрін өлшеу арқылы сапалы әдіспен жүргізілді. Субстрат ретінде агаризацияланған майсыздандырылған сұт қолданылды. Коллагенді ыдырататын ферменттердің продуценттерін бастапқы іріктеу Петри табақшасында құрамында субстрат ретінде тазартылған коллагені бар Чапека-Докстың агаризацияланған ортасында жүзеге асырылды. *A.awamori* 16 және *A. awamori* 22 штамдары ең көп белсенділікке ие болды. *A. awamori* 16-да 5-тәулікте казеин гидролизінің аймақтары – 22,8 мм, ал коллагенде – 20,8 мм болса, ал *A. awamori* – 22-де казеин гидролизінің аймақтары – 20,1 мм, ал коллагенде 19,1 мм-ді құрады. Жүргізілген зерттеулердің келесі кезеңі пртеолитикалық және коллаген ыдыратушы ферменттердің продуценттерінің іріктелген *A.awamori* 16 және *A. awamori* 22 штамдарынан ассоциацияны құрумен байланысты. Осыған орай, іріктелген продуценттерді екеуін бірге терендетіп өсіру жағдайында сұйық қоректік ортада өсіру ісі жүргізілді. *A. awamori* 16 және *A. awamori* 22-ден тұратын микромицеттер қауымдастыры оның монокультурасының құрамдас белгіне қараганда, пртеолитикалық және коллагенді ыдырататын ферменттердің белсендіндігі түзетінгі белгілі болды. *A. awamori* 22 штамында 3-тәулікте протеазаның белсенділігі – 3,0 б/мл, коллагеназа – 4,3 б/мл, ал *A. awamori* 16 штамында протеазаның белсенділігі – 3-тәулікте 3,4 б/мл, коллагеназа – 4,6 б/мл-ді құрады. *A. awamori* 16 және *A. awamori* 22 қауымдастан культурада протеазаның белсенділігі 3-тәулікте – 6,8 б/мл, ал коллагеназа – 4,6 б/мл-ді құрады. Бастапқы культура мен алынған қауымдастықтың макро- және микроморфологиясы берілген. Культура өсірудін 3 тәулігінде ақ жиегі бар радиалды қатпарлы қоңыр түсті, ірі колонияларды құрайтыны анықталды. Конидиеносцалары түзу, қалың, тегіс. Конидиеносцалардың жоғарғы белгілі көтерінкі және бастарын құрайды. Стеригмалары қыска цилиндрлік жасушалар тәрізді.

Кілттік сөздер: *Aspergillus*, ферменттер, протеаза, коллагеназа.

**Р.К. Блиева¹, А.К. Калиева²,
Ж.Б. Сулейменова¹, А.С. Жакипбекова¹, И.Е. Тапенбаева¹**

¹ТОО «НПП Антиген», Алматы, Қазақстан;

²Актюбинский региональный государственный университет им. К. Жубанова, Казахстан

СКРИНИНГ МИКРОМИЦЕТОВ РОДА *ASPERGILLUS* - ПРОДУЦЕНТОВ ПРОТЕАЗЫ И КОЛЛАГЕНАЗЫ

Аннотация. Из ферментных препаратов, используемых в мясоперерабатывающей промышленности, протеаза и коллагеназа являются основной группой, используемой для улучшения консистенции мяса и мясопродуктов. В мясной промышленности пртеолитические ферменты применяют для ускорения созревания мяса и повышения его выхода. Коллагеназа в отличие от протеазы действует на те соединительные белки мясного сырья, которые определяют его жесткость, расщепляя трудногидролизуемый и неусвояемый коллаген. В последнее время все чаще используют препараты, состоящие из двух и более штаммов, поскольку один микроорганизм не способен обладать всем спектром ферментативной активности, необходимым для биодеструкции природного сырья. Использование двух штаммов, отличающихся по спектру потребляемых субстратов, может привести к полной деструкции соединительной ткани, определяющую жесткость мясного сырья, особенно ее низкосортной части. При совместном использовании нескольких штаммов в консорциуме их эффект усиливается. В связи с этим, целью настоящего исследования являлся отбор из коллекционных культур промышленно ценных микромицетов штаммов, обладающих способностью синтезировать внеклеточную протеазу и коллагеназу, создание на их основе ассоциативной культуры. Проведена сравнительная характеристика 7 штаммов микромицетов рода *Aspergillus* и *Penicillium* – потенциальных продуцентов ферментов протеазы и коллагеназы. Способность культуры гидролизовать субстрат оценивали по размерам зон просветления на 5 сутки роста. Чем больше зоны гидролиза, тем активнее культура образует фермент. Первичный отбор культуры по уровню образования протеазы проводили качественным методом путем измерения диаметра зон просветления (гидролиза) субстрата исследуемыми культурами на 3-5 сутки инкубации (в мм) при 30°C. В качестве субстрата использовали агариованное обезжиренное молоко. Первичный отбор продуцентов коллагенрасщепляющих ферментов осуществляли в чашках Петри на агариованной среде Чапека-Докса, содержащей в качестве субстрата очищенный коллаген. Наибольшей активностью обладали штаммы *A. awamori* 16 и *A. awamori* 22. Зоны гидролиза казеина *A. awamori* 16 на 5 сутки составили 22,8 мм, а коллагена 20,8 мм, тогда как зоны гидролиза казеина *A. awamori* 22 составили 20,1 мм, а коллагена - 19,1 мм. Следующим этапом проводимых исследований явилось создание ассоциации из отобранных штаммов *A. awamori* 16 и *A. awamori* 22 – продуцентов пртеолитических и коллагенрасщепляющих ферментов. Для этой цели было проведено совместное культивирование отобранных продуцентов в жидкой питательной среде в глубинных условиях роста. Установлено, что ассоциация микромицетов, состоящая из *A. awamori* 16 и *A. awamori* 22, активнее образует пртеолитические и коллагенрасщепляющие ферменты, чем

составляющие ее монокультуры. Так, активность протеазы *A. awamori* 16 на 3 сутки роста составила 3,4 ед/мл, а коллагеназы – 4,6 ед/мл, тогда как активность коллагеназы *A. awamori* 22 на 3 сутки роста составила 3,0 ед/мл, а коллагеназы – 4,3 ед/мл. Активность протеазы ассоциативной культуры *A. awamori* 16 и *A. awamori* 22 на третью сутки культивирования составила 4,2 ед/мл, а активность коллагеназы – 6,8 ед/мл. Даны макро- и микроморфология исходных культур и полученной ассоциации. Установлено, что на 3 сутки роста культура образует крупные колонии коричневого цвета, радиально складчатые с белым ободком. Конидиеносцы прямые, толстые, имеют гладкую поверхность. Верхняя часть конидиеносца вздутая и образует головки. Стеригмы представляют собой короткие цилиндрические клетки.

Ключевые слова: *Aspergillus*, ферменты, протеаза, коллагеназа.

Information about the authors:

Blieva Raushan Kazhkenovna, doctor of biological sciences, professor, RPE Co “Antigen”, Almaty, Kazakhstan, <https://orcid.org/0000-0003-3924-2915>;

Kalieva Aigul Kokomanovna, candidate of biological sciences, Aktobe Regional State University named after K. Zhubanov, Kazakhstan, <https://orcid.org/0000-0003-1178-0236>;

Suleimenova Zhanara Begezhanovna, candidate of biological sciences, RPE Co “Antigen”, Almaty, Kazakhstan; Zhakipbekova Aigerim Sovetbekovna, MSc in Biotechnology, RPE Co “Antigen”, Almaty, Kazakhstan, <https://orcid.org/0000-0002-7927-4738>;

Tapenbayeva Inkar Erkinbekkizi, MSc in Biotechnology, RPE Co “Antigen”, Almaty, Kazakhstan, <https://orcid.org/0000-0003-0672-5849>

REFERENCES

- [1] Bekhit A.A., Hopkins D.L., Geesink G., Bekhit A.A., Franks P. Exogenous proteases for meat tenderization // Critical Reviews in Food Science and Nutrition. 2014. Vol. 54 (8). P. 1012-1031.
- [2] Wangang Zh., Maheswarappa N.B., Cheorun Jo, Ryoichi S. Technological demands of meat processing – An Asian perspective // Meat Science. 2017. Vol. 132. P. 35-44.
- [3] Sorour B., Nafiseh S. Improvement of meat tenderness by simultaneous application of high-intensity ultrasonic radiation and papain treatment // Innovative Food Science & Emerging Technologies. 2017. Vol. 39. P. 223-229.
- [4] Warner R.D., McDonnell C.K., Bekhit A.E.D., Claus J. Systematic review of emerging and innovative technologies for meat tenderisation // Meat Science. 2017. Vol. 132. P. 72-89.
- [5] Lana A., Zolla L. Proteolysis in meat tenderization from the point of view of each single protein: A proteomic perspective // Journal of Proteomics. 2016. Vol. 147. P. 85-97.
- [6] Palka K., Wesierska E. Cooking of meat // Physics and Chemistry Encyclopedia of Meat Sciences (Second Edition). 2014. P. 404-409.
- [7] Suriya J., Bharathiraja S., Manivasagan P., Kim S.K. Enzymes From Rare *Actinobacterial* Strains // Advances in Food and Nutrition Research. 2016. Vol. 79. P. 67-98.
- [8] Ramirez M.S., Marcelo E. Tolmasky Aminoglycoside modifying enzymes // Drug Resistance Updates. 2010. Vol. 13, № 6. P. 151-171.
- [9] Rafieenia, R. Effect of nutrients and culture conditions on antibiotic synthesis in *Streptomyces* // Asian Journal of Pharmaceutical and Health Sciences. 2013. Vol. 3(3). P. 810-821.
- [10] Smaoui, S., Mathieu, F., Fguira, L., Merlina, G., & Mellouli, L. Taxonomy and antimicrobial activities of a new *Streptomyces* sp. TN17 isolated in the soil from an Oasis in Tunis // Archives of Biological Sciences. 2011. Vol. 63(4). P. 1047-1056.
- [11] Sharma K.M., Kumar R., Panwar S., Kumar A. Microbial alkaline proteases: Optimization of production parameters and their properties // Journal of Genetic Engineering and Biotechnology. 2017. Vol. 15, № 1. P. 115-126.
- [12] Denise F. Bratcher 129 – *Bacillus* Species (Anthrax) // Principles and Practice of Pediatric Infectious Diseases (Fifth Edition). 2017. P. 770-773.
- [13] Ferreira C.M., Correia P.C. Collagenase produced from *Aspergillus* sp. (UCP 1276) using chicken feather industrial residue // Biomedical Chromatography. 2017. Vol. 31(5). P. 32-35.
- [14] Ida E.L., da Silva R.R., de Oliveira T.B., Souto T.B., Leite J.A., Rodrigues A., Cabral H. Biochemical properties and evaluation of washing performance in commercial detergent compatibility of two collagenolytic serine peptidases secreted by *Aspergillus fischeri* and *Penicillium citrinum* // Preparative Biochemistry and Biotechnology. 2017. Vol. 47(3). P. 282-290.
- [15] Blieva R. K., Suleimenova Zh.B., Zhakipbekova A.S., Kalieva A.K., Saduyeva Zh.K., Rakhetova Zh.K. Selection of optimal nutrient medium for collagenase biosynthesis by association *Aspergillus awamori* 16 and *Aspergillus awamori* 22 // Известия НАН РК. Серия биологическая и медицинская. 2019. Vol. 1. № 331. P. 26-31.
- [16] Oyeleke S.B., Egwim E.C., Auta S.H. Screening of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus fumigatus* strains for extracellular protease enzyme production // Journal of Microbiology and Antimicrobials. 2010. Vol. 2(7). P. 83-87.
- [17] Rippon, J.W., Lorincz, A.L. Collagenase activity of *Streptomyces (Nocardia) maduroe* // Journal of Investigative Dermatology. 1964. Vol. 43. P. 483.
- [18] GOST 20264.2-88. Enzyme preparations. Methods for determining proteolytic activity. "Yes," hesaid. 1989-01-01. M.: IPK Publishing house of standards, 2005.
- [19] Demina N.S., Lysenko C.B. Collagenolytic activity of Streptomyces sp. // Microbiology. 1992. 61, № 4. P. 629-633.

**Publication Ethics and Publication Malpractice
in the journals of the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan**

For information on Ethics in publishing and Ethical guidelines for journal publication see <http://www.elsevier.com/publishingethics> and <http://www.elsevier.com/journal-authors/ethics>.

Submission of an article to the National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract or as part of a published lecture or academic thesis or as an electronic preprint, see <http://www.elsevier.com/postingpolicy>), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, including electronically without the written consent of the copyright-holder. In particular, translations into English of papers already published in another language are not accepted.

No other forms of scientific misconduct are allowed, such as plagiarism, falsification, fraudulent data, incorrect interpretation of other works, incorrect citations, etc. The National Academy of Sciences of the Republic of Kazakhstan follows the Code of Conduct of the Committee on Publication Ethics (COPE), and follows the COPE Flowcharts for Resolving Cases of Suspected Misconduct (http://publicationethics.org/files/u2/New_Code.pdf). To verify originality, your article may be checked by the originality detection service Cross Check <http://www.elsevier.com/editors/plagdetect>.

The authors are obliged to participate in peer review process and be ready to provide corrections, clarifications, retractions and apologies when needed. All authors of a paper should have significantly contributed to the research.

The reviewers should provide objective judgments and should point out relevant published works which are not yet cited. Reviewed articles should be treated confidentially. The reviewers will be chosen in such a way that there is no conflict of interests with respect to the research, the authors and/or the research funders.

The editors have complete responsibility and authority to reject or accept a paper, and they will only accept a paper when reasonably certain. They will preserve anonymity of reviewers and promote publication of corrections, clarifications, retractions and apologies when needed. The acceptance of a paper automatically implies the copyright transfer to the National Academy of sciences of the Republic of Kazakhstan.

The Editorial Board of the National Academy of sciences of the Republic of Kazakhstan will monitor and safeguard publishing ethics.

Правила оформления статьи для публикации в журнале смотреть на сайте:

www:nauka-nanrk.kz

ISSN 2518-1483 (Online), ISSN 2224-5227 (Print)

<http://reports-science.kz/index.php/en/archive>

Редакторы: *М. С. Ахметова, Г. Б. Халидуллаева, Д. С. Аленов*

Верстка на компьютере *А.М. Кульгинбаевой*

Подписано в печать 07.04.2020.

Формат 60x881/8. Бумага офсетная. Печать – ризограф.

11 п.л. Тираж 500. Заказ 2.