

## СКРИНІНГ МІКРОМІЦЕТІВ — ПРОДУЦЕНТІВ ІНУЛІНАЗИ

В. І. Стойко  
Н. М. Жданова  
В. Л. Айзенберг  
Г. П. Капічон

Інститут мікробіології і вірусології ім. Д. К. Заболотного  
НАН України, Київ

E-mail: v\_stoiko@mail.ru

Проведено ступінчастий скринінг щодо здатності до синтезу інулінази серед 301 колекційної культури 106 видів 39 родів мікроміцетів. Найактивнішими продуцентами виявилися представники родів *Aspergillus* та *Penicillium*. Селекціоновано два нових ефективних штами *Penicillium* sp. 225 (мезофільна культура) і *Aspergillus* sp. 8ТХ (термотолерантна культура), що мають високі показники інуліназної активності й широкі перспективи застосування в біотехнології.

**Ключові слова:** скринінг, мікроскопічні гриби, інуліназна активність.

Інуліназа (2,1- $\beta$ -D-фруктозанфруктано-гідролаза, КФ 3.2.1.7) є недостатньо вивченим ферментом, який має значні перспективи використання: попереднє оброблення доступної сільськогосподарської сировини, наприклад такої як топінамбур і цикорій, для одержання фруктозних сиропів — дешевих замінників цукру для дієтичного харчування хворих на діабет. Інтерес до процесів ферментативного гідролізу інуліну рослинного походження пов'язаний також із перспективою отримання цукристих речовин, етанолу та молочної кислоти [1–3].

Під час гідролізу інуліну, що здійснюється ферментативним шляхом, який є екологічно сприятливішим порівняно з кислотним (хімічним), не отримують побічних продуктів, що ускладнюють виділення й очищення кінцевого продукту. У процесі кислотного гідролізу інуліну спостерігається утворення передуквалічних діангідридів дифруктози та оксиметилфурфуролу, який є отруйною речовиною [1].

В Україні інуліназу не виробляють. Одним із факторів, що лімітує процес її виробництва є, зокрема, відсутність конкурентоспроможних продуцентів.

Інуліназу здатні утворювати багато мікроорганізмів — гриби, дріжджі, бактерії. Серед бактерій, які синтезують внутрішньоклітинний фермент, відомі продуценти з родів *Bacillus*, *Clostridium*, *Pseudomonas*. Водночас, дріжджова і грибна інулінази є індукційними ферментами. Вченими з Інституту мікробіології АН Вірменії було досліджено

інуліназу, отриману за допомогою *Kluyveromyces marxianus* [4, 5].

Активнішими продуцентами інулінази є мікроміцети, серед яких на особливу увагу заслуговують представники родів *Aspergillus* та *Penicillium*. Екзоінуліназа грибного походження є більш технологічною порівняно з бактеріальною ендоінуліназою [2, 6–12].

Мета нашого дослідження — пошук продуцентів ферменту інулінази грибного походження для подальшого використання в біотехнології.

### Матеріали і методи

Об'єктом дослідження був 301 штаб з колекції культур відділу фізіології та систематики ІМВ НАНУ 106 видів 39 родів мезо- та термотолерантних мікроскопічних грибів. Переважну більшість штамів мікроміцетів виділено з ґрунтових зразків. Скринінг потенційно активних штамів проводили в кілька етапів.

Для відбору потенційних продуцентів інулінази використовували модифіковане нами рідке живильне середовище Чапека з додаванням 0,5% -го інуліну (Merck, Німеччина) як єдиного джерела вуглецю. Гриби вирощували в умовах глибинного культивування на лабораторних качалках (180–220 об/хв) при 26–28 °С (для мезофільних грибів) та 37–40 °С (для термофільних грибів). Здатність мікроскопічних грибів до розщеплення інуліну оцінювали в культуральних фільтрах досліджуваних штамів на 3-тю та 6-ту

добу культивування. На першому етапі скринінгу здатність до розщеплення інуліну оцінювали хроматографічним способом за наявністю в культуральному фільтраті грибів продукту гідролізу інуліну — D-фруктози.

Для характеристики вмісту продуктів гідролізу інуліну застосовували кругову паперову хроматографію [13]. Цей метод базувався на візуальному порівнянні інтенсивності забарвлення плям за п'ятибальною шкалою. Як розчинник використовували нормальний бутиловий спирт, насичений водою, для чого змішували два об'єми спирту з одним об'ємом води і старанно струшували. Використовували верхній відстояний шар суміші. Досліджувані культуральні фільтрати наносили на «швидкий» хроматографічний папір у кількості 0,02 мл за допомогою мікрошприців. «Свідками» слугували 0,5%-ні розчини D-фруктози, D-глюкози, а також інулінвмісне живильне середовище (як контроль). Цукри на хроматограмі виявляли за допомогою реактиву, що містив: 10 мл 96%-го етилового спирту, 1 мл водного розчину 1 н. соляної кислоти та 0,1 г сечовини. З фруктозою цей реактив дає плями сіро-синього кольору, який під час зберігання хроматограм переходить у темно-сірий.

Наступним етапом скринінгу було визначення інуліназної активності штамів, що їх було відібрано кількісним методом з використанням реактиву Самнера [14], який належить до методів відновлення редукувальних цукрів. При цьому динітросаліцилова кислота зв'язується з редукувальним гідроксилом, унаслідок чого виникає забарвлення, інтенсивність якого залежить від кількості редукувальних речовин, які вступили в реакцію.

За одиницю інуліназної активності приймали кількість ензиму, яка каталізує утворення 1 мкМ фруктози з інуліну за 1 хв у стандартних умовах проведення реакції ( $t$  50 °C, pH 4,6).

Масу міцелію культур різного віку визначали шляхом висушування в сушильній шафі при  $105 \pm 2$  °C до постійної маси.

За здатністю до росту та кількістю утвореної біомаси досліджувані мікроскопічні гриби розподілили на такі групи: не ростуть, мають задовільний (1,3 мг/мл середовища), помірний (до 1,6 мг/мл середовища) та інтенсивний (>1,6 мг/мл середовища) ріст.

## Результати та обговорення

Здатність до росту на живильному середовищі, до складу якого входив інулін, та рівень активності ензиму — основні критерії, якими ми послуговувались під час селекції культур мікроміцетів, що синтезують позаклітинну інуліназу.

Було показано, що 65% культур мікроміцетів добре ростуть на інулінвмісному середовищі; 33% культур характеризувалися слабким ростом, а 2% — були не здатні засвоювати інулін як єдине джерело вуглецю (рис. 1).

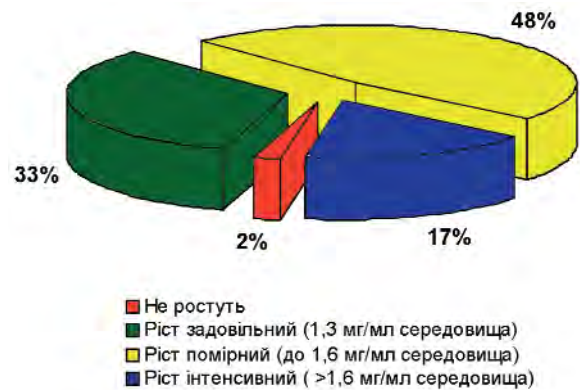


Рис. 1. Ріст мікроміцетів на модифікованому середовищі Чапека з інуліном

Дані про кількість ізолятів потенційно активних штамів щодо синтезу інулінази наведено в табл.1.

Із 301 штаму досліджуваних мікроскопічних грибів здатних гідролізувати інулін до фруктози було 35. Серед них 28 штамів — представники роду *Aspergillus*, інші 7 культур — представники родів *Penicillium* (*Penicillium* sp. 225), *Acremonium* (*A. flavum* 61968), *Fusarium* (*F. solani* 50589), *Trichocladium* (*T. asperum* 394), *Cunninghamella* (*C. elegans* 3), *Trichoderma* (*Trichoderma* sp. ІТР).

Із 90 ізолятів роду *Aspergillus* 30% виявили здатність до розщеплення інуліну (рис. 2). У наших дослідках досить активними були штами *A. ustus* (12 штамів), *A. carbonarius* (5 штамів), *A. foetidus* (4 штами), *A. awamori* (3 штами). Активність інулінази відзначено також в окремих штамів *Aspergillus* sp. 8 ТХ, *A. carneus*, *A. niger*, *A. terreus*. Натомість *A. candidus*, *A. egyptiacus*, *A. ochraceus*, *A. parvulus*, *A. versicolor* були нездатні гідролізувати інулін.

Таблиця 1. Досліджувані мікроскопічні гриби — продуценти інулінази

№ п/п	Назва виду гриба	Кількість досліджуваних штамів
1	2	3
<b>рід <i>Absidia</i></b>		<b>4</b>
1	<i>Absidia glauca</i> Hagem	1
2	<i>Absidia</i> sp.	3
<b>рід <i>Acremonium</i></b>		<b>4</b>
3	<i>Acremonium charticola</i> (Lindau) W. Gams	1
4	<i>A. flavum</i> W. Gams	1
5	<i>A. thermophilum</i> W. Gams & Lacey	1
6	<i>Acremonium</i> sp.	1
<b>рід <i>Actinomucor</i></b>		<b>1</b>
7	<i>Actinomucor elegans</i> (Eidam) C. R. Benjamin & Hesseltine	1
<b>рід <i>Aspergillus</i></b>		<b>90</b>
8	<i>Aspergillus awamori</i> Nakazawa	18
9	<i>A. candidus</i> Link: Fries	2
10	<i>A. carbonarius</i> (Bainier) Thom	7
11	<i>A. carneus</i> (van Tieghem) Blochwitz	1
12	<i>A. egyptiacus</i> Moubasher & Moustafa	1
13	<i>A. flavipes</i> Wiley & Simmons	3
14	<i>A. foetidus</i> Thom & Raper	6
15	<i>A. niger</i> van Tieghem	21
16	<i>A. ochraceus</i> Wilhelm	1
17	<i>A. parvulus</i> G. Smith	1
18	<i>A. terreus</i> Thom & Raper var. <i>aureus</i>	1
19	<i>A. terreus</i> Thom var. <i>terreus</i>	2
20	<i>A. ustus</i> (Bainier) Thom & Church	22
21	<i>A. versicolor</i> (Vuillemin) Tiraboschi	4
<b>рід <i>Chaetomium</i></b>		<b>4</b>
22	<i>Chaetomium succineum</i> L. Ames	1
23	<i>Ch. termophilum</i> La Touche var. <i>termophilum</i>	2
24	<i>Ch. virescens</i> (von Arx) Udagawa	1
<b>рід <i>Chrysosporium</i></b>		<b>5</b>
25	<i>Chrysosporium</i> sp.	5
<b>рід <i>Cladosporium</i></b>		<b>11</b>
26	<i>Cladosporium cladosporioides</i> (Fresenius) de Vries	6
27	<i>C. herbarum</i> (Persoon: Fries) Link	8
28	<i>C. sphaerospermum</i> Penzig	4
<b>рід <i>Cochliobolus</i></b>		<b>1</b>
29	<i>Cochliobolus lunatus</i> R. Nelson & Haasis	1
<b>рід <i>Corynascus</i></b>		<b>2</b>
30	<i>Corynascus sepedonium</i> (C. W. Emmons) von Arx	1
31	<i>Corynascus</i> sp.	1
<b>рід <i>Cunninghamella</i></b>		<b>3</b>
32	<i>Cunninghamella elegans</i> Lendner	3
<b>рід <i>Drechslera</i></b>		<b>1</b>
33	<i>Drechslera</i> sp.	1
<b>рід <i>Epicoccum</i></b>		<b>1</b>
34	<i>Epicoccum nigrum</i> Link	1

Продовження табл. 1

1	2	3
	<b>pid <i>Eupenicillium</i></b>	<b>2</b>
35	<i>Eupenicillium parvum</i> (Raper & Fennell) Stolk & D. B. Scott	1
36	<i>E. stolckiae</i> D.B. Scott	1
	<b>pid <i>Fusarium</i></b>	<b>100</b>
37	<i>Fusarium avenaceum</i> (Corda: Fries) Saccardo	7
38	<i>F. camptoceras</i> Wollenweber & Reinking	1
39	<i>F. culmorum</i> (W.G. Smith) Saccardo	7
40	<i>F. graminearum</i> Schwabe	1
41	<i>F. heterosporum</i> Ness: Fries	1
42	<i>F. incarnatum</i> (Roberge) Saccardo	2
43	<i>F. javanicum</i> Koorders	1
44	<i>F. lateritium</i> Ness: Fries var. <i>lateritium</i>	1
45	<i>F. oxysporum</i> Schlechlendahl: Fries	16
46	<i>F. sambucinum</i> Fuckel var. <i>sambucinum</i>	37
47	<i>F. solani</i> (Martius) Saccardo	18
48	<i>Fusarium</i> sp.	6
49	<i>F. tumidum</i> Sherbakoff	1
50	<i>F. verticillioides</i> (Saccardo) Nirenberg	1
	<b>pid <i>Geotrichum</i></b>	<b>4</b>
51	<i>Geotrichum candidum</i> Link: Fries	1
52	<i>G. capitatum</i> (Diddens & Lodder) von Arx	1
53	<i>Geotrichum</i> sp.	2
	<b>pid <i>Humicola</i></b>	<b>3</b>
54	<i>Humicola grisea</i> Traaen var. <i>grisea</i>	1
55	<i>H. insolens</i> Cooney & Emerson	2
	<b>pid <i>Malbranchea</i></b>	<b>1</b>
56	<i>Malbranchea cinnamomea</i> (Libert) van Oorschot & de Hoog	1
	<b>pid <i>Melanocarpus</i></b>	<b>2</b>
57	<i>Melanocarpus albomyces</i> (Cooney & Emerson) von Arx	2
	<b>pid <i>Mortierella</i></b>	<b>2</b>
58	<i>Mortierella isabellina</i> Oudemans	1
59	<i>M. vinacea</i> Dixon–Stewart	1
	<b>pid <i>Mucor</i></b>	<b>3</b>
60	<i>Mucor</i> sp.	3
	<b>pid <i>Mycelia</i></b>	<b>1</b>
61	<i>Mycelia sterilia</i> (white)	1
	<b>pid <i>Myceliophthora</i></b>	<b>1</b>
62	<i>Myceliophthora hinnulea</i> Awao & Udagawa	1
	<b>pid <i>Oidiodendron</i></b>	<b>1</b>
63	<i>Oidiodendron cerealis</i> (von Thunen) Barron	1
	<b>pid <i>Paecilomyces</i></b>	<b>2</b>
64	<i>Paecilomyces lilacinus</i> (Thom) Sam.	1
65	<i>P. marquandii</i> (Masse) S. Hughes	1
	<b>pid <i>Penicillium</i></b>	<b>15</b>
66	<i>Penicillium aculeatum</i> Raper & Fennell	1
67	<i>P. citrinum</i> Thom	1
68	<i>P. decumbens</i> Thom	1
69	<i>P. dierckxii</i> Biourge	1
70	<i>P. funiculosum</i> Thom	1
71	<i>P. glabrum</i> (Wehmer) Westling	1

1	2	3
72	<i>P. piceum</i> Raper & Fennell	1
73	<i>P. rubrum</i> Stoll	1
74	<i>P. sclerotiorum</i> van Beyma	2
75	<i>Penicillium</i> sp.	2
76	<i>P. tardum</i> Thom	1
77	<i>P. thomii</i> Maire	1
78	<i>P. verruculosum</i> Peyronel	1
<b><i>pið Pseudeurotium</i></b>		<b>1</b>
79	<i>Pseudeurotium zonatum</i> van Beyma	1
<b><i>pið Rhizomucor</i></b>		<b>5</b>
80	<i>Rhizomucor miehei</i> (Cooney et Emerson) Schipper	1
81	<i>Rh. pusillus</i> (Lindt) Schipper	3
82	<i>Rhizomucor</i> sp.	1
<b><i>pið Rhizopus</i></b>		<b>3</b>
83	<i>Rh. microsporus</i> van Tieghem var. <i>microsporus</i>	1
84	<i>Rhizopus</i> sp.	2
<b><i>pið Scopulariopsis</i></b>		<b>2</b>
85	<i>Scopulariopsis brevicaulis</i> (Saccardo) Bainier	1
86	<i>S. brumptii</i> Salvanet-Duval	1
<b><i>pið Scytalidium</i></b>		<b>1</b>
87	<i>Scytalidium thermophilum</i> (Cooney & Emerson) Austwick	1
<b><i>pið Sordaria</i></b>		<b>1</b>
88	<i>Sordaria</i> sp.	1
<b><i>pið Talaromyces</i></b>		<b>2</b>
89	<i>Talaromyces emersonii</i> Stolk	1
90	<i>T. luteus</i> (Zukal) C.R. Benjamin	1
<b><i>pið Thermoascus</i></b>		<b>2</b>
91	<i>Thermoascus aurantiacus</i> Miede	1
92	<i>Th. crustaceus</i> (Apinis & Chesters) Stolk	1
<b><i>pið Thermomyces</i></b>		<b>1</b>
93	<i>Thermomyces lanuginosus</i> Tsiklinsky	1
<b><i>pið Thielavia</i></b>		<b>11</b>
94	<i>Thielavia</i> sp.	4
95	<i>Th. terrestris</i> (Apinis) Malloch & Cain	7
<b><i>pið Trichocladium</i></b>		<b>1</b>
96	<i>Trichocladium asperum</i> Harz	1
<b><i>pið Trichoderma</i></b>		<b>4</b>
97	<i>Trichoderma koningii</i> Oudemans	1
98	<i>T. pseudokoningii</i> Rifai	1
99	<i>Trichoderma</i> sp.	1
100	<i>T. viride</i> Persoon: Fries	1
<b><i>pið Ulocladium</i></b>		<b>3</b>
101	<i>Ulocladium atrum</i> Preuss	1
102	<i>U. botrytis</i> Preuss	1
103	<i>Ulocladium</i> sp.	1
<b><i>pið Verticillium</i></b>		<b>3</b>
104	<i>Verticillium bulbillosum</i>	1
105	<i>V. chlamydosporium</i> Goddard var. <i>chlamydosporium</i>	1
106	<i>Verticillium</i> sp.	1
<b>Всього</b>		<b>301</b>

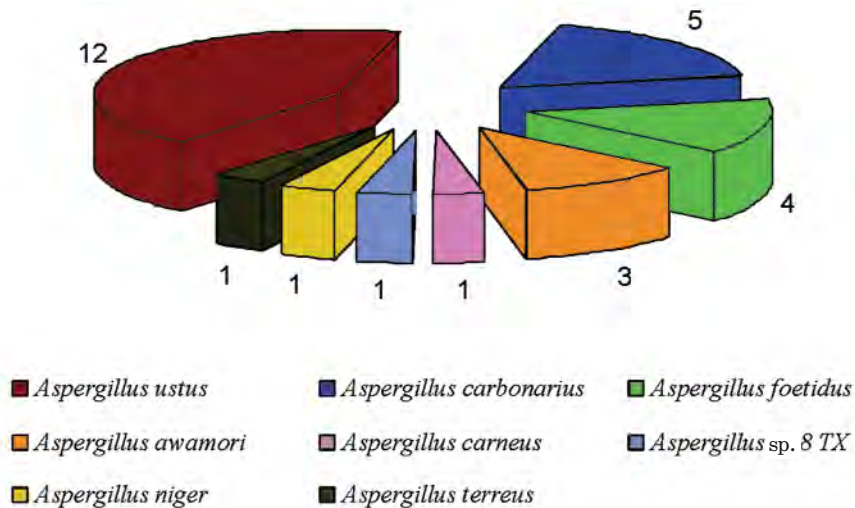


Рис. 2. Досліджувані штами роду *Aspergillus*, які виявили здатність до розщеплення інуліну

Найвищі показники активності на 3-тю добу росту відзначено у представників мітоспорових світлозбарвлених грибів *Penicillium* sp. 225, *A. flavum* 61968 та *Mycelia sterilia* (white) 16692, *A. carneus* 1957, а серед пігментованих — у *T. asperum* 394. У світлозбарвлених грибів *Aspergillus* sp. 8 TX і *A. ustus* 57р високий рівень інуліназної активності встановлено на 6-ту добу росту (табл. 2).

Гриби з підвищеною здатністю до розщеплення інуліну характеризувалися задовіль-

ним, помірним та інтенсивним рівнями накопичення біомаси, проте кореляції між рівнем накопичення біомаси грибами на інулінвмісному середовищі та їхніми гідролітичними властивостями ми не спостерігали.

Як показали наші дослідження, дані первинного скринінгу щодо виявлення активних штамів повністю збігалися з результатами кількісного методу визначення інуліназної активності грибів з використанням реактиву Самнера (табл. 3).

Таблиця 2. Здатність грибів до розщеплення інуліну

№ п/п	Вид гриба	Штам	3-тя доба	6-та доба
1	2	3	4	5
1	<i>Acremonium flavum</i>	61968	+++	++
2	<i>Aspergillus awamori</i>	131 p	+	+
3		Ca 1017	+	+
4		Ca 162 K	+	+
5	<i>Aspergillus carbonarius</i>	Ca 136 ap	+	+
6		Ca 136 K	+	+
7		Ca 136 p	+	+
8		Ca 137 ap	+	+
9		Ca 137 p	+	+
10	<i>Aspergillus carneus</i>	1957	+++	++
11	<i>Aspergillus</i> sp.	8TX	++	++++
12	<i>Aspergillus foetidus</i>	132 ap foet	+	+
13		Ca 132 p	+	+
14		Ca 133 ap	+	+
15		Ca 133 p	+	+
16	<i>Aspergillus niger</i>	1521 a	++	++
17	<i>Aspergillus terreus</i>	85p	+	+

1	2	3	4	5
18	<i>Aspergillus ustus</i>	56 p	+	+
19		57 a	+	+
20		57 ap	+	+
21		57 p	++	+++
22		58 p	+	+
23		61 p	+	+
24		63 p	+	+
25		64 p	+	+
26		65 p	+	+
27		66 p	+	+
28		68 p	+	+
29	69 p	+	+	
30	<i>Cunninghamella elegans</i>	3	+	+
31	<i>Fusarium solani</i>	50589	++	++
32	<i>Mycelia sterilia</i> (white)	16692	+++	++
33	<i>Penicillium aculeatum</i>	225	++++	++
34	<i>Trichocladium asperum</i>	394	+++	++
35	<i>Trichoderma</i> sp.	ITP	++	++

Примітка. «0» — ознака відсутня; «+» — ознака виявлена у слідових кількостях; «++» — ознака слабо виражена; «+++» — ознака помірно виражена; «++++» — ознака сильно виражена.

Таблиця 3. Інулізна активність відібраних мікроміцетів

№ п/п	Назва гриба	Місце виділення	Маса міцелію, мг/100 мл	Інулізна активність, мг/мл
1	<i>Penicillium</i> sp. 225	Київська область, Обухівський район	0,340	3,23 ± 0,02
2	<i>Acremonium flavum</i> 61968	Крим, Джанкойський район	0,176	0,58 ± 0,03
3	<i>Mycelia sterilia</i> (white) 16692	Київська область, Обухів	0,170	0,98 ± 0,03
4	<i>Trichocladium asperum</i> 394	Київська область	0,195	0,40 ± 0,02
5	<i>Aspergillus carneus</i> 1957	Луганська область, Лисичанськ	0,175	1,25 ± 0,02
6	<i>Fusarium solani</i> 50589	Житомирська область	0,178	0,63 ± 0,05
7	<i>Aspergillus</i> sp. 8TX	Крим	0,310	2,14 ± 0,02
8	<i>Aspergillus ustus</i> 57 p	Крим	0,230	0,42 ± 0,03
9	<i>Trichoderma</i> sp. ITP	Полтавська область	0,187	0,76 ± 0,03
10	<i>Aspergillus niger</i> 1521 a	Київська область, Обухівський район	0,211	0,67 ± 0,03

У результаті первинного скринінгу продуцентів інулінази з 10 відібраних нами штамів найвищу інуліназну активність відзначено у *Penicillium* sp. 225, *Aspergillus* sp. 8TX, *A. carneus* 1957 — на середовищі з інуліном вона становила 3,23, 2,14 та 1,25 од/мл відповідно. В інших досліджених штамів культур мікроскопічних грибів величина інуліназної активності була нижчою за 1 од/мл.

Таким чином, найактивнішими продуцентами інулінази виявилися представники родів *Aspergillus* та *Penicillium*. При цьому

штамова особливість мала велике значення. Отримані нами дані щодо скринінгу узгоджуються з даними інших дослідників [2, 6–12].

Унаслідок спрямованого ступінчастого скринінгу серед 301 культури мікроміцетів різного таксономічного положення селекціоновано два нових ефективних штами *Penicillium* sp. 225 (мезофільна культура) і *Aspergillus* sp. 8TX (термотолерантна культура), які мають високу інуліназну активність. Це може бути використано в подальших дослідженнях щодо можливого застосування у процесі виробництва цього ензиму.

ЛІТЕРАТУРА

1. *Абелян В. А., Манукян Л. С., Африкян Э. Г.* Получение фруктозо-глюкозного сиропа из инулинсодержащего сырья с применением иммобилизованных клеток дрожжей // Прикл. биохим. микробиол. — 1998. — Т. 34, № 5. — С. 544–548.
2. *Грачова И. М., Кривова А. Ю.* Технология ферментных препаратов. — М.: Элевар, 2000. — 512 с.
3. *Микробные ферменты и биотехнология* / Под ред. В. М. Фогарти. — М.: Агропромиздат, 1986. — 242 с.
4. *Жеребцов Н. А., Абрамова И. Н., Шеламова С. А.* Выделение экстрацеллюлярной бактериальной инулиназы и изучение ее физико-химических свойств // Биотехнология. — 2002. — № 3. — С. 13–20.
5. *Абелян В. А., Манукян Л. С.* Характеристика экзо-инулиназ *Kluyveromyces marxianus* и *Bacillus licheniformis* // Биохимия. — 1996. — Т. 61, вып. 6. — С. 35–38.
6. *Gill P. K., Manhas R. K., Singh J., Singh P.* Purification and characterization of an exoinulinase from *Aspergillus fumigatus* // Appl. Biochem. Biotechnol. — 2004. — V. 117, N 1. — P. 19–32.
7. *Kulminskaya A. A., Arand M., Eneyskaya E. V. et al.* Biochemical characterization of *Aspergillus awamori* exoinulinase: substrate binding characteristics and regioselectivity of hydrolysis // Biochim. Biophys. Acta. — 2003. — V. 1650, N 1–2. — P. 22–29.
8. *Skowronek M., Fiedurek J.* Optimisation of inulinase production by *Aspergillus niger* using simplex and classical method // Food Technol. Biotechnol. — 2004. — V. 42, N 3. — P. 141–146.
9. *Akimoto H., Kiyota, N., Kushima T., Nakamura T.* Molecular cloning and sequence analysis of an endoinulinase gene from *Penicillium* sp. strain TN-88 // Biotechnol. Biochem. — 2000. — V. 64. — P. 2328–2335.
10. *Rosemeire A. B. Pessoni, Marcia R. Braga, Rita de Cassia L. Figueiredo-Ribeiro.* Purification and properties of exo-inulinases from *Penicillium janczewskii* growing on distinct carbon sources // Mycologia. — 2007. — V. 99, N 4. — P. 493–503.
11. *Балаян А. М., Пивазян Л. А., Хачатурян Р. Н. и др.* Инулиназы *Penicillium palitans* и *Penicillium cyclospium* 895 // Биотехнология. — 2001. — № 3. — С. 72.
12. *Корнеева О. С., Жеребцов Н. А., Шуваева Г. П. и др.* Инулаза микромицета *Aspergillus awamori* 808. Препаративное получение и некоторые физико-химические свойства // Там же. — 1993. — № 7. — С. 31–35.
13. *Бояркин А. Н.* Простой хроматографический и капельный метод определения сахаров на фильтровальной бумаге. — М.: Наука, 1989. — 115 с.
14. *Айзенберг В. Л., Стойко В. И., Демиденко Е. А. и др.* Методика количественного определения активности грибной инулиназы с использованием реактива Самнера // Биотехнология. — 2007. — № 5. — С. 95–96.

СКРИНИНГ МИКРОМИЦЕТОВ — ПРОДУЦЕНТОВ ИНУЛИНАЗЫ

*В. И. Стойко, Н. Н. Жданова,  
В. Л. Айзенберг, А. П. Капичон*

Институт микробиологии и вирусологии  
им. Д. К. Заболотного НАН Украины, Киев

*E-mail: v\_stoiko@mail.ru*

Проведен ступенчатый скрининг способности к синтезу инулиназы среди 301 коллекционной культуры 106 видов 39 родов микромицетов. Самыми активными продуцентами оказались представители родов *Aspergillus* и *Penicillium*. Селекционированы два новых эффективных штамма *Penicillium* sp. 225 (мезофил) и *Aspergillus* sp.8TX (термотолерантная культура), которые имеют высокие показатели инулиназной активности и широкие перспективы применения в биотехнологии.

**Ключевые слова:** скрининг, микроскопические грибы, инулиназная активность.

SCREENING OF MICROMYCETES AS PRODUCERS OF INULINASE

*V. I. Stoiko, N. M. Zhdanova,  
V. L. Aisenberg, A. P. Kapichon*

Institute of Microbiology and Virology  
of National Academy of Sciences of Ukraine,  
Kyiv

*E-mail: v\_stoiko@mail.ru*

Screening of producers of inulinase among 301 collection strains of 106 species of 39 genus of micromycetes has been carried out. The most active inulinase producers of *Aspergillus* and *Penicillium* genus were found. The new effective strains *Penicillium* sp. 225 (mesophyl) and *Aspergillus* sp.8TX (thermophyl culture) with high level of inulinase activity were selected for use in biotechnology.

**Key words:** screening, microscopic fungi, inulinase activity.