

Т.В. Шевцова, Е.Г. Гаркавая, Я. Бриндза

## АНТИОКСИДАНТНА АКТИВНІСТЬ ВОДНИХ І СПИРТОВИХ ЕКСТРАКТІВ ПИЛЬЦІ БЕРЕЗИ БОРОДАВЧАТОЇ (*BETULA VERRUCOSA* EHRH.) В ЗАВИСІМОСТІ ВІД МІСТА ПРОИЗРАСТАННЯ

Приведено результати дослідження загальної антиоксидантної активності (ОАА) водних і спиртових екстрактів 7 образців пиліці *Betula verrucosa* Ehrh. з різних місць произрастання в Україні з використанням вільного стабільного радикала дифенілпікрилгідрозилу (ДФПГ). Встановлено, що пиліца берези бородавчатої характеризується високою антиоксидантною активністю: для водних екстрактів пиліці значення ОАА визначені в межах 81,94%-85,50%, для спиртових – 60,27%-84,91%. Вплив місця произрастання і екстрагенту на значення ОАА підтверджено статистично.

T.V. Shevtsova, K.G. Garkava, J. Brindza

## ANTIOXIDANT ACTIVITY OF WATER AND ETHANOL EXTRACTS OF SILVER BIRCH POLLEN (*BETULA VERRUCOSA* EHRH.) DEPENDING ON HABITAT

Total antioxidant activity (TAA) of the aqueous and ethanol extracts of seven samples of pollen *Betula verrucosa* Ehrh. from different habitats of Ukraine with the free stable radical 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) has been investigated. It is established that the pollen birch characterized by high antioxidant activity: values of the TAA for aqueous pollen extracts are defined within 81.94%-85.50%, for ethanol extracts – 60.27%-84.91%. The influence of habitat and extractant on values of TAA confirmed statistically.

Надійшла 25.06.2012 р.

582.28:57.083.1:664.6/.7(477)

Т.С. Іванова<sup>1</sup>, Т.А. Круподьорова<sup>1</sup>,  
В.Ю. Барштейн<sup>1</sup>, Г.П. Мегалінська<sup>2</sup>

<sup>1</sup> - Державна установа «Інститут харчової біотехнології та геноміки Національної академії наук України»;  
вул. Осиповського, 2а, Київ, 04123

<sup>2</sup> - Національний педагогічний університет імені М.П. Драгоманова; вул. Пирогова, 9, Київ, 01601

## СКРИНІНГ ЛІКАРСЬКИХ ГРИБІВ ПРИ КУЛЬТИВУВАННІ НА ВІДХОДАХ ХАРЧОВОЇ ПРОМИСЛОВОСТІ УКРАЇНИ

*Лікарські гриби, скринінг, субстрати, культивування.*

Екологічні проблеми останніх десятиліть, насамперед – наслідки Чорнобильської катастрофи, економічні негаразди в Україні призвели до погіршення якості і структури

харчування. Збільшилася захворюваність населення, зменшилась тривалість життя. У зв'язку з цим, виробництво функціональних харчових продуктів, харчових продуктів для спеціального дієтичного споживання, харчових та дієтичних добавок є важливою державною проблемою.

В основі створення вищезгаданої продукції лежать вибір сировини, перш за все – рослинної, що містить необхідні біологічно активні речовини, здатні збагатити продукти харчування. Такою перспективною сировиною є лікарські гриби (як плодові тіла, так і міцелій).

Культивування міцелію лікарських грибів на рідких поживних середовищах дозволяє за короткий термін одержати міцеліальну масу та культуральну рідину з високими показниками біологічної цінності. Важливою передумовою їх використання в харчових продуктах є створення поживних середовищ на основі відходів харчової промисловості. Перевагами такого підходу, у порівнянні з використанням синтетичних поживних середовищ, є менша вартість, вирішення проблеми утилізації відходів тощо. Використання поживних середовищ на основі відходів харчової промисловості також може бути альтернативною стратегією для елімінування негативних ефектів катаболітної репресії [1] та високого осмотичного тиску [2], що спричиняються порівняно високими концентраціями окремих компонентів синтетичних поживних середовищ.

Отже, метою роботи було проведення скринінгу лікарських грибів на середовищах з відходами харчової промисловості України.

### Матеріал і методика досліджень

Об'єктами досліджень були лікарські гриби з колекції культур шапинкових грибів Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України (ІБК) [3]: *Grifola frondosa* (Dicks.) Gray 976, *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler 355, *Cordyceps sinensis* (Berk.) Sacc. 209, *Cordyceps militaris* (L.) Link 207, *Ganoderma applanatum* (Pers.) Pat. 1701, *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst. 1900, *Flammulina velutipes* (Curtis) Singer 600, *Trametes versicolor* (L.) Lloyd. 353, *Schizophyllum commune* Fr. 1768 та *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm. 453.

Основою для субстратів для поверхневого культивування досліджуваних видів грибів були виробничо-технологічні відходи харчової промисловості України [4]: цілі та мелені відходи III категорії ВАТ «Київмлин» (м. Київ), їх об'єми досягають 70 т на місяць при очищенні жита та пшениці (включають: зернові залишки від очищення зерна, до складу яких входить не більше 2% зерна, соломисті частинки, пил аспіраційний і оббивальний чорний [5]); сухарна крихта, об'єми якої лише на одному Хлібокомбінаті №12 (м. Київ) досягають 7 т на місяць; аспіраційні відходи ячменю ВАТ «Оболонь» (м. Київ), які утворюються в об'ємі 20 т на місяць при доробці зерна та солоду (включають: частинки дробленого солоду, лушпиння, ендосперму, оболонки, ростки та борошно, а також пил, що утворюються внаслідок переміщення солоду під тиском по зернопроводам пневмотранспорту і роботи аспіраційних систем солодополірувальних машин та вібраційних сит).

Субстрати у кількості 25 г на 1 літр води стерилізували в автоклаві 40 хв. при 1 атм. у колбах об'ємом 0,100 л. Після стерилізації субстрат інокулювали гомогенізованим міцелієм досліджуваних видів грибів, що був попередньо вирощений на чашках Петрі з агаризованим глюкозо-пептон-дріжджовим середовищем (г/л): глюкоза – 25,0; пептон – 3,0; дріжджовий екстракт – 2,0;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 1,0;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  – 1,0;  $\text{MgSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O}$  – 0,25; агар – 20,0 г, вода – 1 л. Інокульовані субстрати інкубували у термостаті при температурі  $26 \pm 2^\circ \text{C}$  14 діб.

Міцелій відділяли від культуральної рідини шляхом фільтрації, концентрація біомаси визначалася ваговим методом [6].

Ефективність біоконверсії субстратів розраховували за формулою: [абсолютно суха вага міцелію/ абсолютно суха вага відходів]  $\times$  100% [7].

Вологість основи для субстратів визначали висушуванням наважки 5 г при температурі 130°C у сушильній шафі протягом 40 хв [8].

Зольність основи для субстратів визначали шляхом спалювання наважки 2 г у муфельній печі при температурі 600-900°C до повного озолення із наступним визначенням кількості неспаленого залишка [9]. Для зменшення втрат при спалюванні зольність не визначали у меленому лушпинні.

Вміст вуглецю визначали шляхом перерахунку зольності основи для субстратів за формулою: (100% - зольність)  $\times$  0,52 [10].

Загальний азот визначали за К'ельдалем [11]. Для кращої мінералізації зразка вміст азоту визначали у меленому, а не цілому лушпинні.

Повторність дослідів трикратна, результати експериментів оброблено методами математичної статистики з використанням Microsoft Excel.

## Результати дослідження та їх обговорення

Зважаючи на те, що джерела вуглецю та азоту безпосередньо впливають на утворення нових клітин і біосинтез метаболітів [12], ми проаналізували відібрані основи для субстратів на вміст вуглецю, азоту, вологість, зольність (Таблиця). Рівень їх вологості майже не відрізнявся. Найбільший вміст мінеральних речовин встановлено у відходах III категорії ВАТ «Київмлин». Оскільки залежність вмісту вуглецю в основі для субстрату від зольності має обернено пропорційний характер, то найбільше вуглецю виявлено в сухарній крихті, найменше – у відходах III категорії ВАТ «Київмлин».

Досліджені нами основи для субстратів відрізнялись за співвідношенням вуглецю до азоту: 22:1 для відходів III категорії ВАТ «Київмлин», 10,5:1 для аспіраційних відходів ячменю та 16:1 для сухарної крихти. Раніше встановлено, що співвідношення C/N в основі для субстрату як 8:1 – 10:1 є найсприятливішим для росту вищих базидіальних грибів [13]. Надлишковий вміст вуглеводів в основі для субстрату може порушувати нормальний метаболізм організму, що призводить до утворення побічних продуктів обміну в живильному середовищі [13].

*Таблиця 1.*

Загальна характеристика основ для субстратів, % а.с.р.

Показник	Відходи III категорії ВАТ «Київмлин»		Аспіраційні відходи ячменю	Сухарна крихта
	цілі	мелені		
Вологість	9,28 $\pm$ 0,05	9,08 $\pm$ 0,08	9,92 $\pm$ 0,04	9,38 $\pm$ 0,03
Зольність	10 $\pm$ 0,25	-	5,89 $\pm$ 0,25	1,75 $\pm$ 0,04
Вуглець	46,8 $\pm$ 0,13	-	48,94 $\pm$ 0,14	51,09 $\pm$ 0,03
Азот	-	2,11 $\pm$ 0,02	4,67 $\pm$ 0,5	3,16 $\pm$ 0,02

Досить бідний склад субстратів на основі відходів III категорії ВАТ «Київмлин» не сприяв росту грибів. Гриби синтезували невелику кількість міцеліальної маси – від 1,3 до 4,3 г/л (мал. 1). Крім того, ріст *S. commune* та *G. frondosa* слід вважати обумовленим наявністю поживних речовин інокулюму, а не поживного субстрату.

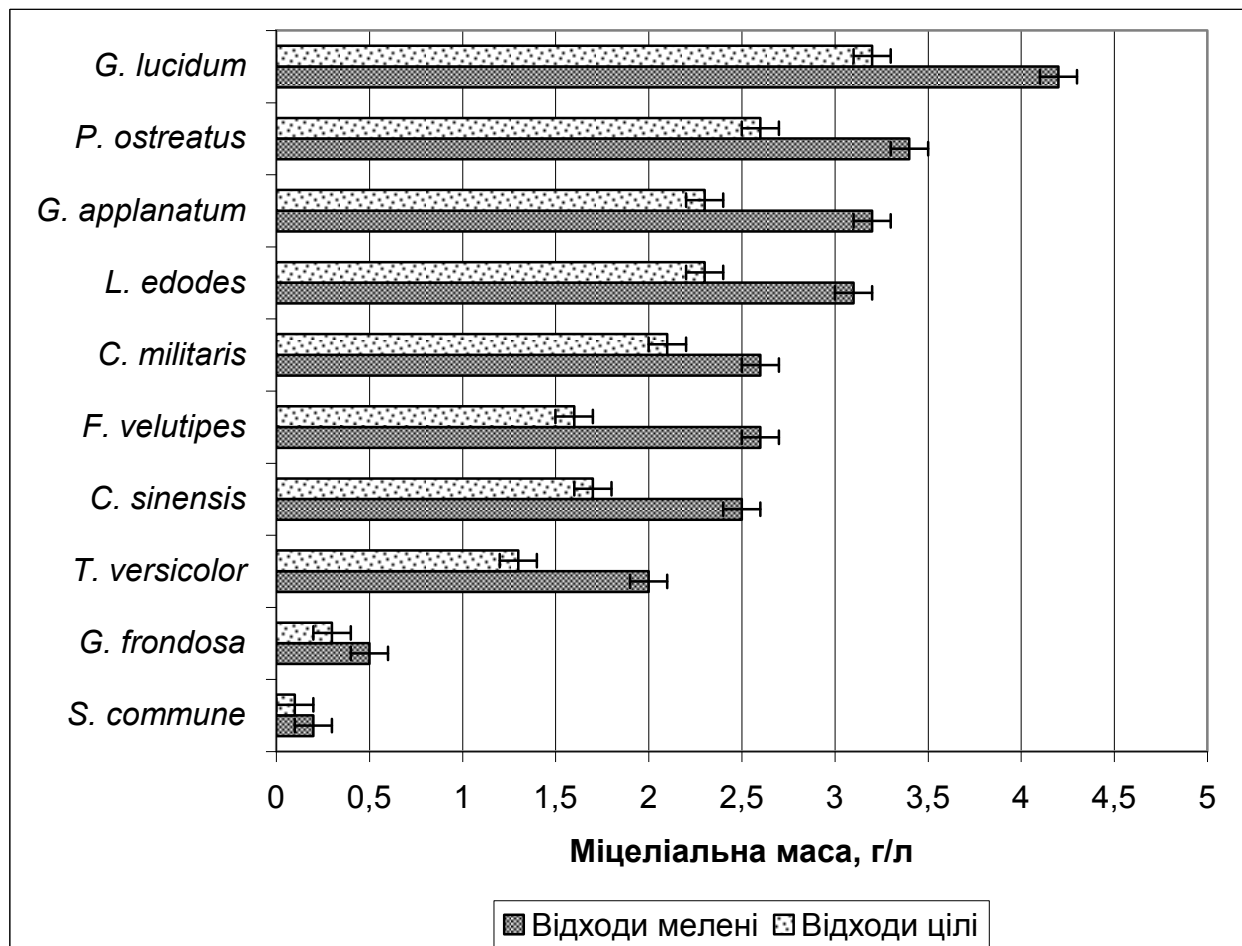


Рис. 1. Ріст грибів на відходах III категорії ВАТ «Київмлин»

Дещо кращий ріст грибів на мелених відходах III категорії ВАТ «Київмлин», в порівнянні із цілими, є наслідком збільшення площини поверхні контакту субстрату та кращої екстракції речовин у живильне середовище. Вплив ступеню подрібненості на ріст грибів виявлено іншими дослідниками [14].

На аспіраційних відходах ячменю всі гриби росли також повільно і синтезували від 3,2 до 6,2 г/л міцеліальної маси (мал. 2). Несуттєве збільшення виходу міцеліальної маси досліджених видів грибів може бути обумовлене за рахунок вмісту у субстраті частинок дробленого солоду та борошна.

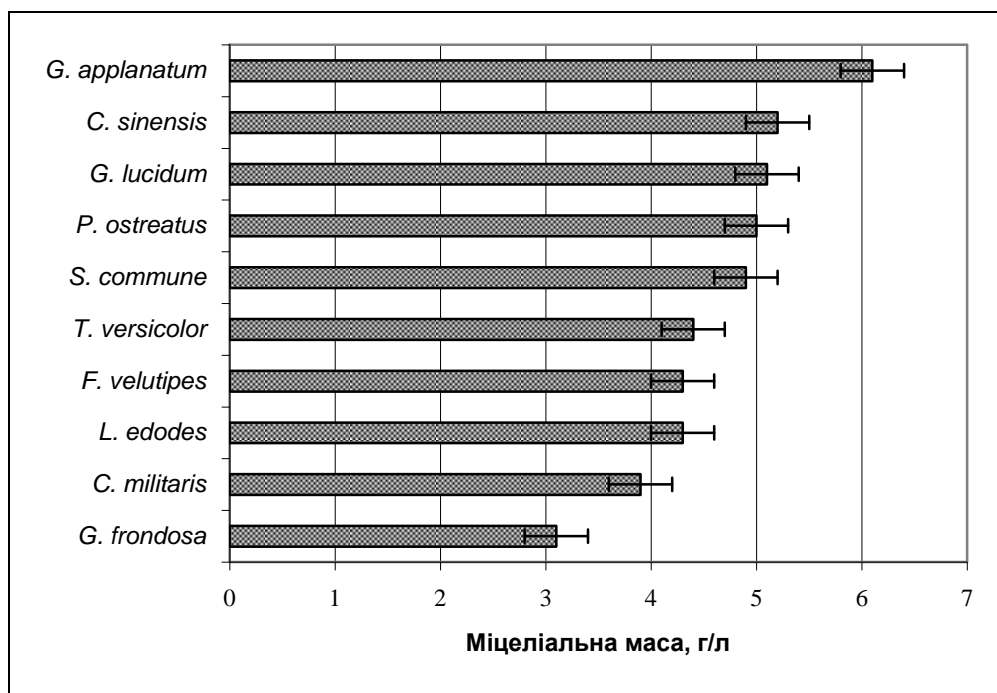


Рис. 2. Ріст грибів на аспіраційних відходах ячменю

Кращий ріст грибів (від 2,4 до 9 г/л) спостерігали при використанні сухарної крихти з Хлібокомбінату №12 (мал. 3).

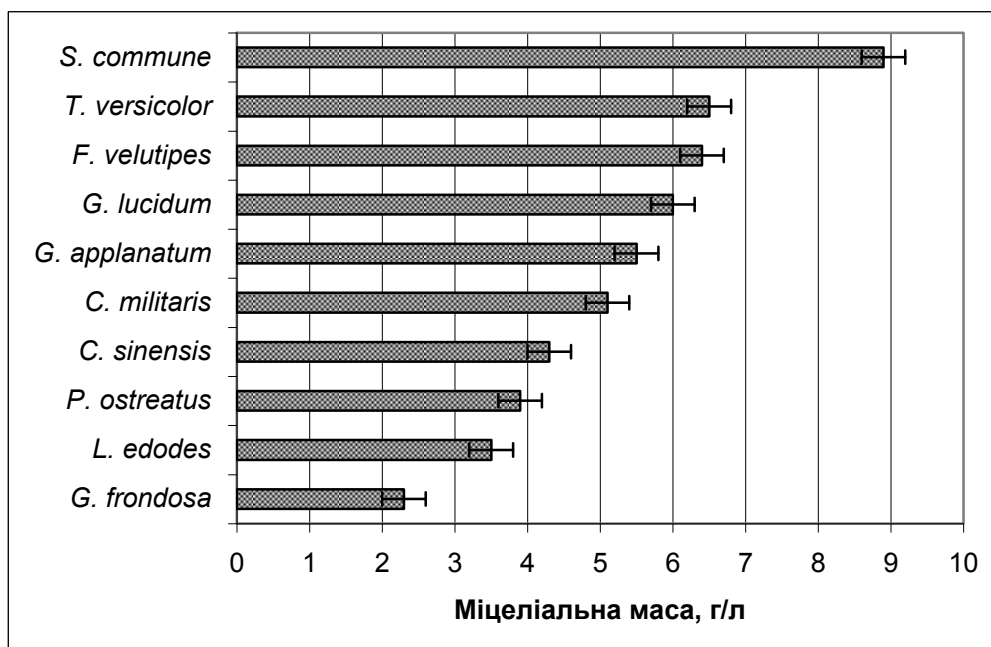


Рис. 3. Ріст грибів на хлібній крихті

Найгірше засвоював усі субстрати *G. frondosa*, який за даними М.Л. Ломберг [15] належить до тих, що повільно ростуть. Поганий ріст *G. frondosa* на відходах III

категорії БАТ «Київмлин» обумовлений значною кількістю целюлози у субстраті, яку гриб не здатен засвоювати [16].

Слід відзначити високу ефективність біоконверсії цього субстрату *S. commune* на рівні 39,3%. Хорошу ефективність біоконверсії сухарної крихти мали також *T. versicolor*, *F. velutipes* і *G. lucidum* – 28,7%, 28,2% та 26,5%, відповідно. Ймовірно, ці чотири види грибів містять активні амілази, що здатні добре розкласти основний компонент сухарної крихти – крохмаль до простих вуглеводів, які в природі є звичайними джерелами вуглецю.

### Висновки

Досліджені види лікарських грибів по-різному засвоювали обрані субстрати. На відходах III категорії БАТ «Київмлин» найкраще росли види грибів *G. lucidum*, *P. ostreatus*, *G. applanatum* та *L. edodes*, на аспіраційних відходах ячменю – *G. applanatum*, *C. sinensis*, *G. lucidum* та *P. ostreatus*, а *S. commune*, *T. versicolor*, *F. velutipes* та *G. lucidum* – на сухарній крихті. Цікавим виявився факт надання переваги якомусь із субстратів близькими видами грибів з родів *Cordyceps* та *Ganoderma*. Найбільшу кількість біомаси синтезував *S. commune* на сухарній крихті.

Враховуючи поживну цінність досліджених субстратів, дані проведеного скринінгу та ефективність біоконверсії грибами, найкращим поживним середовищем виявився субстрат на основі сухарної крихти для культивування *S. commune*, *T. versicolor*, *F. velutipes* і *G. lucidum*.

### ЛІТЕРАТУРА

1. Peng X. Improved production of mycelial biomass and ganoderic acid by submerged culture of *Ganoderma lucidum* SB97 using complex media / X. Peng, D. Zhong-Yang, Q. Zhu, Zh. Chang-Xin, Zh. Ke-Chang // Enzyme and Microbial Technology. – 2008. – № 42. – P. 325–331.
2. Fang Q.H. Submerged fermentation of higher fungus *Ganoderma lucidum* for production of valuable bioactive metabolites – ganoderic acid and polysaccharide / Q.H. Fang, J.J. Zhong // Biochemical Engineering Journal. – 2002. – № 10. – P. 61–5.
3. Бухало А.С. Каталог колекції культур шапинкових грибів ІБК / А.С. Бухало, Н.Ю. Митропольская, О.Б. Михайлова. – К.: „Альтерпрес”, 2011. – 100 с.
4. Класифікатор відходів (ДК 005-96). – [Чинний від 1996-10-01]. – К.: Держспоживстандарт України, 2008. – 281 с. – (Основоположні стандарти).
5. Борошно, побічні продукти і відходи. Терміни та визначення (ДСТУ 2209-93). – [Введ. 1994-07-01]. – К.: Держспоживстандарт України, 1994. – 57 с. – (Стандарти на терміни та визначення).
6. Методи експериментальної мікології: Довідник/ [наук. ред. В.І. Білай]. – К.: Наук. думка, 1982. – 550 с.
7. Wu J.-Zh., Studies on submerged fermentation of *Pleurotus tuber-regium* (Fr.) Singer – Part 1: physical and chemical factors affecting the rate of mycelial growth and bioconversion efficiency/ J.-Zh. Wu, P.C.K. Cheung, K.-H. Wong, N.-L. Huang // Food Chemistry. – 2003. – № 81. – P. 389-393.
8. ГОСТ 29143-91 (ИСО 712-85) Зерно и зернопродукты. Определение влажности (рабочий контрольный метод). – [Введ. 1992-10-01]. – М.: ИПК Издательство стандартов, 2004. – 7 с. – (Стандарты на методы контролю).
9. ДСТУ ISO 2171:2009 Зернові, бобові та продукти їх помелу. Визначення загальної золи методом озолування. – [Введ. 2011-01-01]. – К.: Держспоживстандарт України, 2011. – 11 с. – (Стандарти на методи контролю).
10. Воробьева Л.А. Химический анализ почвы. – М.: Издательство МГУ, 1998. – 272 с.

11. ДСТУ ISO 1871:2003 Продукти харчові сільськогосподарські. Загальні настанови щодо визначення вмісту азоту методом К'ельдаля. – [Введ. 2005-01-07]. – К.: Держспоживстандарт України, 2007. – 11 с. – (Стандарти на методи контролю).
12. Xian-Bing M. Optimization of carbon source and carbon/nitrogen ratio for cordycepin production by submerged cultivation of medicinal mushroom *Cordyceps militaris*/ M. Xian-Bing, E. Titiporn, Ch. Somchai, Zh. Jian-Jiang // Process Biochemistry. – 2005. - № 40. – P. 1667–1672.
13. Биосинтетическая деятельность высших грибов / [А.Н. Шиврина, О.П. Низковская, Н.Н. Фалина и др.]. – Л.: Наука, 1969. – 241с.
14. Бабицкая В. Г., Трансформация костры льна в белок мицелиальными грибами / В.Г. Бабицкая, И.В. Стахеев, В.В. Щерба, А.М. Костина, Б.Ю. Вадецкий // Микология и фитопатология. – 1986. - № 2. – С. 113–119.
15. Ломберг М.Л. Лікарські макроміцети у поверхневій та глибинній культурі. Автореф. дис. ... к.б.н.: 03.00.21 / Інститут ботаніки ім. М.Г. Холодного НАНУ. – К., 2005. – 20 с.
16. Ooi V.E.C. Medicinally important fungi// Proceedings of the 15<sup>th</sup> Intrnational Congress on the Science and Cultivation of Edible Fungi. – Maastricht (Netherlands). – 2000. – P.41-51.

**Т.С. Иванова, Т.А. Круподёрова,  
В.Ю. Барштейн, А.П. Мегалинская**

### **СКРИНИНГ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ГРИБОВ ПРИ КУЛЬТИВИРОВАНИИ НА ОТХОДАХ ПИЩЕВОЙ ПРОМЫШЛЕННОСТИ УКРАИНЫ**

В статье приведены результаты скрининга десяти лекарственных грибов на отходах пищевой промышленности Украины: сахарной крошке, отходах III категории предприятия «Київмлин» и аспирационных отходах ячменя. Наибольшее накопление биомассы и эффективность биоконверсии наблюдались на субстрате с сахарной крошкой четырьмя видами: *Schizophyllum commune*, *Trametes versicolor*, *Flammulina velutipes* и *Ganoderma lucidum*.

**T.S. Ivanova, T.A. Krupodorova  
V.Ju. Barshteyn, A.P. Megalinska**

### **SCREENING OF MEDICINAL MUSHROOMS CULTIVATED ON THE UKRAINIAN FOOD INDUSTRY WASTES**

In present study we performed screening of ten medicinal mushrooms on the Ukrainian food industry wastes: rusk crumbles, 3-d category wastes of “Kiivmlyn” enterprise, and wastes of barley aspiration. The best results of biomass accumulation and bioconversion efficiency showed four musroom speacies: *Schizophyllum commune*, *Trametes versicolor*, *Flammulina velutipes* and *Ganoderma lucidum* on the substrate with the basis of rusk crumbles.

Надійшла 20.03.2012 р.