



Вісник Дніпропетровського університету. Біологія, екологія.
 Visnik Dnipropetrovs'kogo universitetu. Seriâ Biologiâ, ekologiâ
 Visnyk of Dnipropetrovsk University. Biology, ecology.

Visn. Dnipropetr. Univ. Ser. Biol. Ekol. 2016. 24(1), 119–123.

doi:10.15421/011614

ISSN 2310-0842 print
 ISSN 2312-301X online

www.ecology.dp.ua

УДК 582.284.3:577.1

Вплив сульфату та цитрату міді на склад біомаси лікарського гриба *Trametes versicolor* (Polyporales, Polyporaceae)

Г.А. Аль-Маалі¹, Н.А. Бісько¹, А.М. Остапчук²

¹Інститут ботаніки імені М.Г. Холодного НАН України, Київ, Україна

²Інститут мікробіології та вірусології імені Д.К. Заболотного НАН України, Київ, Україна

Наведено дані щодо впливу цитрату та сульфату міді на біохімічний склад біомаси цінного лікарського гриба *Trametes versicolor* (L.) Lloyd, (1920), що зростав на рідкому живильному середовищі в умовах глибинної культури. Результати експерименту свідчать про те, що цитрат та сульфат міді посилюють синтез білків за рахунок зменшення вмісту загальних вуглеводів у біомасі *T. versicolor* 353 порівняно із середовищем без міді. Обидві форми міді стимулювали накопичення зольних елементів у міцелії *T. versicolor* 353 порівняно з контрольним середовищем. Сульфат міді негативно впливає на накопичення загальних ліпідів відносно середовища без міді та із цитратом міді. Суттєве зростання біомаси *T. versicolor* 353 у разі додавання в середовище для культивування цитрату або сульфату міді впливало на продуктивність синтезу окремих компонентів. Цитрат міді та сульфат міді (порівняно з контрольним середовищем без міді) збільшували продуктивність синтезу сирого протеїну в міцелії *T. versicolor* 353 на 94% та 63% відповідно. Продуктивність синтезу вуглеводів зростала на 72% (на середовищі із цитратом міді) та на 43% (на середовищі із сульфатом міді) відносно контрольного дослідження. Амінокислотний аналіз міцелію *T. versicolor* 353 показав, що додавання цитрату або сульфату міді не впливало на його якісний склад. Продуктивність синтезу ліпідів збільшувалась тільки на середовищі із цитратом цинку (на 57%) відносно контрольного середовища без міді. Цитрат міді суттєво не впливав на жирнокислотний склад міцелію *T. versicolor* 353 порівняно з контролем. Сульфат міді зменшував уміст лінолевої та стимулював накопичення олеїнової кислоти.

Ключові слова: ліпіди; сирий протеїн; амінокислоти; жирні кислоти

The effect of citrate and sulfate of copper on the biomass composition of the medicinal mushroom *Trametes versicolor* (Polyporales, Polyporaceae)

G.A. Al-Maali¹, N.A. Bisko¹, A.M. Ostapchuk²

¹Kholodny Institute of botany NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine

²Zabolotny Institute of Microbiology and Virology NAS of Ukraine, Kyiv, Ukraine

The aim of our research was to study the influence of citrate and sulfate of copper on the biomass composition of the mycelium of the medicinal mushroom *Trametes versicolor* (L.) Lloyd, (1920) cultivated in a liquid medium. The studied strain of *Trametes versicolor* 353 was obtained from the Culture Collection of Mushrooms (IBK) from M.G. Kholodny Institute of Botany, National Academy of Sciences of Ukraine. Copper citrate was obtained from the Institute of Nanobiotechnologies and Resource Conservation of Ukraine, Kyiv. In this study we used glucose-peptone-yeast extract medium. Cu²⁺ (sulfate or citrate form) was added to the medium in concentration 4 mg/L. Mycelium was grown in a submerged culture on a rotary shaker (120 rpm) at 26 °C in 250 ml Erlenmeyer flasks, containing 50 ml of liquid media. The biomass was harvested after 9 days of cultivation in the liquid medium, filtered, washed, dried to a constant weight at 105 °C and weighed. Total nitrogen content (N_{total}) in the mycelium determined by the Kjeldahl method, crude protein content was determined as N_{total} × 6.25. The ash was obtained by the standard method. Total lipids were extracted from undried mycelium by a modified method of Bligh and

Інститут ботаніки імені М.Г. Холодного НАН України, вул. Терещенківська, 2, Київ, 01601, Україна
 Kholodny Institute of botany NAS of Ukraine, Tereshchenkivska Str., 2, Kyiv, 01601, Ukraine

Інститут мікробіології та вірусології імені Д.К. Заболотного НАН України, вул. Академіка Заболотного, 154, Київ, 03680, Україна
 Zabolotny Institute of Microbiology and Virology NAS of Ukraine, Acad. Zabolotny str., 154, Kyiv, 03680, Ukraine
 Tel +38-067-497-49-20 E-mail: galeb.almaali@gmail.com

Dyer. Amino acid composition was analyzed by high-performance liquid chromatography Agilent 1200 (Agilent technologies, USA). The methyl ethers of fatty acids were determined by gas chromatography-mass spectrometry (GC/MS) Agilent 6890N/5973 inert. The results of our research demonstrated that sulfates and citrates of copper increased the amount of crude protein on the mycelium of *T. versicolor* 353. Also both form of copper increased the amount of ash by a third relative to the control medium. At the same time, both forms of copper reduced the amount of total carbohydrates on mycelial biomass. But copper sulfate reduced the amount of total lipids relative to the control medium and medium with copper citrate. It should be noted, that given the significant growth of biomass in both cases, the yield of the same biomass compounds (gram per liter of medium) was raised relative to the control medium. So the yield of total carbohydrates was increased by 72% (on the medium with copper citrate) and 43% (on the medium with copper sulfate) relative to the control medium. The yield of crude protein was raised by 94% (on the medium with copper citrate) and 63% (on the medium with copper sulfate) relative to the control medium. Assay of amino acid composition showed that the quality of crude protein didn't change. Thus the yield of essential amino acids was increased in conjunction with the yield of crude protein. The yield of total lipids increased only on the medium with copper citrate (by 57%) and in this case the content of fatty acids was unchanged significantly relative to the control medium. But sulfate of copper decreased the amount of cis-linoleic acids by 7%, in return the amount of oleic acid was increased relative to the control medium without copper.

Keywords: lipids; crude protein; amino acids; fatty acids

Вступ

Гриби роду *Trametes* Fr. (Basidiomycota) мають довгу історію використання у традиційній східній медицині для лікування та профілактики захворювань верхніх дихальних шляхів, сечовивідної та травної систем. Сучасні дослідження демонструють, що гриби даного роду мають широке лікарське застосування, протипухлинні, гепатопротекторні, антибактеріальні та противірусні властивості (Cai et al., 2010; Maehara et al., 2012; Patel, 2012). Ці характеристики пов'язують насамперед із різними фракціями полісахаридів і протеїнів (Standish et al., 2008; Zong et al., 2012; Kuan et al., 2013). Біомасу цих грибів використовують як цінну харчову добавку, що містить багато мікроелементів, незамінних амінокислот і ненасичених жирних кислот, використовують для очищення субстратів від ксенобіотиків (Ivanova et al., 2010; Fedotov and Chaika, 2015). До того ж, культуральна рідина *Trametes versicolor* (L.) Lloyd, (1920) – джерело біотехнологічно важливих ферментів: лаккази та пероксидази.

Сучасне промислове культивування лікарських ксилотрофних базидіоміцетів направлене на збільшення виходу біомаси та її окремих компонентів, у тому числі біологічно активних речовин. Вирощування міцелію базидієвих грибів на синтетичних рідких живильних середовищах різного складу дає можливість впливати на синтез біомаси та її біосинтетичні властивості. Окремі автори зазначають, що під час культивування деяких видів лікарських грибів додавання до живильного середовища мікроелементів, у тому числі міді, позитивно впливає на біосинтез екзо- та ендополісахаридів (Zou et al., 2005; Xiao et al., 2006; Zhi-ling, 2009), синтез лаккази та експресію відповідних генів (Soden and Dobsen 2001; Vasina et al., 2015), а також змінює амінокислотний склад міцелію (Zou, 2005). Відмітимо особливу роль міді у фізіології живлення *T. versicolor*, пов'язану з тим, що іони міді входять в активний центр лаккази. Крім того, мідь входить до складу низки ферментів електронотранспортного ланцюга та супероксиддисмутази (Banci, 2013; Kroneck and Sosa Torres, 2015).

Зазвичай у культивуванні грибів використовують неорганічні солі металів, які мають низьку хімічну чистоту та невисоку біологічну активність порівняно з органічними сполуками металів. Перспективні з цього погляду солі карбонових кислот, у тому числі цитрати металів, дозволені до використання у харчовій промисловості. Проте традиційні методи отримання карбокси-

латів трудомісткі та енергозатратні. Інтенсивний розвиток нанотехнологій дав змогу створити низку методів для промислового виробництва цитратів металів із високим ступенем чистоти та біологічною доступністю (Patent of Ukraine for utility model number 39392). Borysevych and Kaplunenko (2010) відмічають високу біологічну активність цитратів металів щодо рослинних об'єктів, мікроорганізмів і тварин. У дослідженнях І.І. Бандури (Bandura, 2014) зазначається, що комплексне добриво «Аватар-1», яке складається із суміші цитратів різних металів, позитивно впливає на плодоношення грибів із роду *Pleurotus* (Fr.) P. Kumm.

У попередньому дослідженні вивчали вплив різних концентрацій цитратів і сульфатів металів (залізо, марганець, мідь та цинк) на ріст міцелію *T. versicolor* 353 на рідкому живильному середовищі (Al-Maali, 2015). Отримані результати свідчать, що серед досліджених металів найбільший вплив на приріст біомаси *T. versicolor* 353 мала мідь.

Мета нашої роботи – оцінити вплив цитрату та сульфату міді на біохімічний склад біомаси лікарського гриба *T. versicolor*.

Матеріал і методи досліджень

Об'єкт дослідження – штам *T. versicolor* 353 із Колекції культур шапинкових грибів Інституту ботаніки імені М.Г.Холодного НАН України (Buchalo et al., 2011). Штам обрано за результатами скринінгу біотехнологічно цінних штамів *T. versicolor*, проведеного Л.О. Антоненко (Antonenko, 2013).

Міцелій вирощували 9 діб у глибинній культурі (120 об./хв) за температури 26 ± 1 °C у колбах Ерленмейєра об'ємом 250 мл, що містили 50 мл живильного середовища такого складу (контрольне середовище, г/дм³): глюкоза – 25, пептон – 3, дріжджовий екстракт – 3, K₂HPO₄ – 1, KH₂PO₄ – 1, MgSO₄•7H₂O – 0,25, дистильована вода – 1 дм³, рН 6,5 (ГПД). Інокулом отримували упродовж п'яти діб за тих самих умов. Інокулом додавали з розрахунку 10% від об'єму живильного середовища. У досліджуваних варіантах до середовища додавали цитрат або сульфат міді у концентрації 4 мг/л Cu²⁺, оптимальній для накопичення біомаси цього штаму (Al-Maali, 2015). Цитрат міді отримано методом аквананотехнології в Українському державному науково-дослідному інституті нанобіотехнологій та ресурсозбереження при Державному агентстві резерву України (Patent of Ukraine for utility

model number 39392). Біомасу, зібрану на 9-ту добу культивування, фільтрували, промивали, висушували до постійної ваги при 105 °С та зважували. Загальний азот (N_{total}) визначали в абсолютно сухій біомасі методом К'ельдаля, вміст сирого протеїну в міцелії визначали за формулою: $N_{total} \times 6,25$ (Cunniff, 1995). Вміст золи визначали за стандартною методикою (Cunniff, 1995). Загальні ліпіди екстрагували із сирової біомаси модифікованим методом Блайя-Даяра (Manirakiza et al., 2001). Кількість загальних вуглеводів визначали за формулою: $M_c = M_b - (M_{cp} + M_l + M_a)$, де M_c – маса загальних вуглеводів (г), M_b – біомаса (г), M_{cp} – маса сирого протеїну (г), M_l – маса загальних ліпідів (г), M_a – маса золи (г).

Продуктивність визначали як загальну кількість органічної речовини, утворену популяцією клітин штаму *T. versicolor* 353 на одиницю об'єму живильного середовища (Barna, 1997). Амінокислотний склад визначали за допомогою високоефективної рідинної хроматографії на хроматографі Agilent 1200 (Agilent technologies, USA) (Henderson et al., 2000; Jambor and Molnar-Perl, 2009a, 2009b). Жирнокислотний склад визначали за допомогою газової хроматографії з мас-спектрометрією (GC/MS) Agilent 6890N/5973 inert. Метиллові ефіри жирних кислот отримували стандартним методом (Christie, 1989).

Дослідження проводили у трьох повторностях. Дані виражені як середні значення \pm похибка. Статистичний аналіз проводили за допомогою програм OriginPro 8.5.1 (Origin-Lab Corporation, USA), вибірки порівнювали з використанням однофакторного дисперсійного аналізу. Статистично достовірною порівняно з контролем вважали різницю $P < 0,05$.

Результати та їх обговорення

Аналіз основних компонентів біомаси міцелію *T. versicolor* 353, культивованого на середовищі із солями міді в органічній і неорганічній формі, свідчить про те, що цитрат і сульфат міді рівною мірою впливають на кількість сирого протеїну, загальних вуглеводів і зольність міцелію (табл. 1).

Таблиця 1
Вплив цитрату та сульфату міді на ріст та біохімічний склад міцелію *T. versicolor* 353 у глибинній культурі на ГПД середовищі

Параметри	Контроль	Цитрат міді, 4 мг/л Cu^{2+}	Сульфат міді, 4 мг/л Cu^{2+}
Біомаса, г/л	4,8 \pm 0,21	8,6 \pm 0,19*	7,1 \pm 0,06*
Приріст біомаси, % до контролю	–	79,9*	48,9*
Сирий протеїн, % біомаси	17,6 \pm 0,31	19,0 \pm 0,22*	19,3 \pm 0,32*
Загальні вуглеводи, % біомаси	75,0	71,7*	72, 0*
Загальні ліпіди, % біомаси	1,3 \pm 0,11	1,1 \pm 0,03	0,9 \pm 0,06*
Зола, % біомаси	6,1 \pm 0,20	8,1 \pm 0,28*	7,9 \pm 0,21*

Примітка: * – достовірна різниця з контрольним дослідом за $P < 0,05$.

В обох випадках зафіксовано збільшення вмісту сирого протеїну та золи у біомасі *T. versicolor* 353 відносно

контролю. За дії цитрату та сульфату міді зменшувалась кількість загальних вуглеводів. Зростання вмісту сирого протеїну та золи та зменшення кількості загальних вуглеводів зумовлені наявністю у середовищі іонів міді та не залежать від їх форми (сульфатної чи цитратної). Внесення у середовище сульфату міді інгібувало синтез загальних ліпідів у біомасі *T. versicolor* 353 на 32,6% відносно контролю. Цитрат міді не впливав на цей процес (табл. 1).

Раніше (Al-Maali, 2015) показано, що на середовищі із цитратом міді загальний вихід міцелію на одиницю об'єму живильного середовища (продуктивність) був на 80% більшим, ніж у контрольному досліді. У випадку із сульфатом міді продуктивність за біомасою збільшувалась на 49% відносно контролю. Продуктивність за окремими компонентами (сирий протеїн, загальні ліпіди тощо) теж значно зростала (табл. 1).

За рахунок суттєвого приросту біомаси вихід загальних вуглеводів на одиницю об'єму середовища за умов додавання цитрату міді збільшувався на 71,8% (табл. 1), а за присутності сульфату міді – на 42,7% відносно контролю. Продуктивність щодо білка збільшувалась на 94,0% (цитрат міді) та на 63,1% (сульфат міді) порівняно з контролем. Незважаючи на суттєве збільшення біомаси міцелію *T. versicolor* 353 на середовищі із сульфатом міді, вихід загальних ліпідів на одиницю об'єму середовища був на тому самому рівні, що і в контрольному досліді (табл. 1). На середовищі із цитратом міді продуктивність щодо ліпідів зростала (за рахунок збільшення біомаси) на 57,4% відносно контролю.

Подальші дослідження продемонстрували, що суттєве збільшення виходу сирого протеїну не впливає на його якісні показники. Амінокислотний склад міцелію *T. versicolor* 353, культивованого на середовищах із цитратом або сульфатом міді, був ідентичним до його складу на контрольному середовищі (табл. 2).

Таблиця 2
Амінокислотний склад міцелію *T. versicolor* 353, культивованого на контрольному живильному середовищі ГПД без міді

Амінокислота	Частка від загальної суми амінокислот, %
Замінні амінокислоти	
L-аланін	8,48 \pm 0,15
L-аргінін	7,09 \pm 0,27
L-аспарагінова кислота	10,21 \pm 0,12
L-гістидин	2,38 \pm 0,05
L-гліцин	6,99 \pm 0,11
L-глутамінова кислота	7,45 \pm 0,17
L-пролін	7,18 \pm 0,25
L-серин	10,61 \pm 0,19
L-тирозин	3,02 \pm 0,09
Незамінні амінокислоти	
L-валін	4,77 \pm 0,09
L-ізолейцин	4,65 \pm 0,20
L-лейцин	4,24 \pm 0,23
L-лізин	10,9 \pm 0,24
L-метіонін	0,21 \pm 0,07
L-треонін	6,75 \pm 0,07
L-фенілаланін	5,05 \pm 0,11

Ці дані свідчать, що вихід незамінних амінокислот на одиницю використаного середовища збільшується зі збільшенням продуктивності щодо сирого протеїну (на 94,0% на середовищі із цитратом міді, на 63,1% на середовищі із сульфатом міді). Під час досліджень жирнокислотного складу міцелію *T. versicolor* 353 на контрольному середовищі ГПД без міді ідентифіковано 8 жирних кислот: пентодеканову (15:0), пальмітинову (С16:0), пальмітолеїнову (С16:1), маргарінову (С17:0), стеаринову (С18:0), олеїнову (С18:1), *cis*- і *trans*- форми лінолевої (С18:2). Частка пальмітинової, олеїнової та *cis*-форми лінолевої кислоти складає понад 90% загальної суми жирних кислот. У міцелії, культивованому на середовищі із сульфатом міді, не виявлено тільки *trans*-форму лінолевої кислоти, а на середовищі із цитратом міді не виявлено пальмітоолеїнової, маргарінової та *trans*-форми лінолевої кислоти (табл. 3).

Таблиця 3

Вплив цитрату та сульфату міді на жирнокислотний склад міцелію *T. versicolor* 353 у глибинній культурі на ГПД середовищі

Жирна кислота	Контроль	Цитрат міді, 4 мг/л Cu ²⁺	Сульфат міді, 4 мг/л Cu ²⁺
Пентодеканова	0,97 ± 0,24	1,01 ± 0,20	0,84 ± 0,13
Пальмітоолеїнова	1,32 ± 0,23	0,00*	0,40 ± 0,08*
Пальмітинова	22,01 ± 1,45	24,41 ± 1,53	25,82 ± 1,99
Маргарінова	0,54 ± 0,17	0,00*	0,41 ± 0,10
<i>cis</i> -Лінолева	67,27 ± 2,56	67,78 ± 2,21	60,32 ± 2,02*
Олеїнова	3,36 ± 0,87	2,91 ± 0,48	7,46 ± 0,99*
<i>trans</i> -Лінолева	0,66 ± 0,41	0,00*	0,00*
Стеаринова	1,74 ± 0,10	1,35 ± 0,29	1,69 ± 0,19
Сума невизначених компонентів	2,13	2,54	3,06

Примітка: * – достовірна різниця з контрольним варіантом за $P < 0,05$.

Певні зміни співвідношення основних жирних кислот відносно контрольного варіанта досліджу спостерігали тільки на середовищі із сульфатом міді. Порівняно з контролем, кількість *cis*-форми лінолевої кислоти зменшилась на 7%, натомість зростала кількість олеїнової кислоти (табл. 3). Тобто співвідношення між поліненасиченими та мононенасиченими жирними кислотами зсувалося у бік останніх. На середовищі із цитратом міді жодних змін у кількості превалюючих жирних кислот порівняно з контролем не спостерігали.

Різний вплив цитрату та сульфату міді на накопичення загальних ліпідів та їх жирнокислотний склад можна пояснити роллю супероксиддисмутази у захисті поліненасичених кислот від окиснення супероксидрадикалом (Sejfula et al., 2006). Gralla et al. (1991) вказують на те, що іони міді активують експресію генів супероксиддисмутази у грибних клітинах.

Таким чином, цитрат міді значно збільшує продуктивність за загальними ліпідами та суттєво не впливає на їх жирнокислотний склад. Додавання до живильного середовища сульфату міді зменшує відсоткову частку загальних ліпідів у міцелії *T. versicolor* 353 та змінює жирнокислотний склад.

Висновки

Оцінено вплив цитрату та сульфату міді на синтез окремих компонентів біомаси *T. versicolor* 353. Продуктивність синтезу сирого протеїну, загальних вуглеводів і загальних ліпідів інтенсивніше збільшується за дії цитрату, ніж за дії сульфату міді. Цитрат міді сприяє збільшенню продуктивності за сирим протеїном і загальними ліпідами та не впливає на їх якісний (амінокислотний та жирнокислотний) склад. Додавання до середовища сульфату міді інгібує синтез загальних ліпідів і зменшує вміст лінолевої кислоти у біомасі *T. versicolor* 353.

Подяка

Автори вдячні д-ру біол. наук професору В.Г. Каплуненку з Українського державного науково-дослідного інституту нанобіотехнологій та ресурсозбереження при Державному агентстві резерву України за надання цитратів міді, використаних у цьому дослідженні.

Бібліографічні посилання

- Al-Maali, G.A., 2015. The influence of metal citrates obtained by aquanotechnology on growth of the strains of medical macromycetes *Ganoderma lucidum* 1900 and *Trametes versicolor* 353. Ukrainian Botanical Journal 72(4), 393–397.
- Antonenko, L.A., 2013. Biotekhnolohiia otrymmanna biomassy vyshchykh bazydialnykh hrybiv rodu *Coriolus* [Biotechnology of biomass higher basidiomycetes of the genus *Coriolus*]. NUHT, Kyiv (in Ukrainian).
- Banci, L., 2013. Metallomics and the Cell. Springer, Dordrecht.
- Bandura, I.I., 2014. Udoskonalennja elementiv tehnologii' promyslovogo vyrobnytva i'stinvnyh grybiv rodu *Pleurotus* (Fr.) P. Kumm. [Improvement of technological elements for industrial production of edible mushroom *Pleurotus* (Fr.) P. Kumm.]. Edelweis, Kyiv (in Ukrainian).
- Barna, M.M., 1997. Botanika. Terminy. Poniattia. Personalii [Botany. Terms. Concepts. Personality]. Akademia, Kyiv (in Ukrainian).
- Borysevych, V.B., Kaplunenko, V.H., 2010. Nanomaterialy v biolohii. Osnovy nanoveterynarii [Nanomaterials in biology. Fundamentals of nanoveterinary medicine]. Avicena, Kyiv (in Ukrainian).
- Buchalo, A.S., Mytropolska, N.Y., Mykchaylova, O.B., 2011. Catalogue of the culture collection of mushrooms IBK. Al-terpress, Kiev.
- Cai, X., Pi, Y., Zhou, X., Tian, L., Qiao, S., Lin, J., 2010. Hepatoma cell growth inhibition by inducing apoptosis with polysaccharide isolated from Turkey tail medicinal mushroom, *Trametes versicolor* (L.: Fr.) Lloyd (Aphyllophoromycetidae). Int. J. Med. Mushrooms 12(3), 257–263.
- Christie, W.W., 1989. Gas chromatography and lipids: A practical guide. Oily Press Ltd, Ayr, Scotland.
- Cunniff, P., 1995. AOAC Official methods of analysis (16th ed.). Association of Official Analytical Chemists, Arlington.
- Fedotov, O.V., Chayka, A.V., 2015. Destrukciya ksenobiotykyv z vykorystannjam kul'tural'nogo fil'tratu ksyloτροφів [Destruction of xenobiotics by culture filtrate from xylophilic Basidiomycetes]. Biological Bulletin of Bogdan Chmelnytskyi Melitopol State Pedagogical University 5(3), 55–72 (in Ukrainian).
- Gralla, E.B., Thiele, D.J., Silar, P., Valentine, J.S., 1991. ACE1, a copper-dependent transcription factor, activates expression of the yeast copper, zinc superoxide dismutase gene. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 88(19), 8558–8562.

- Henderson, J.W., Ricker, R.D., Bidlingmeyer, B.A., Woodward, C., 2000. Rapid, accurate, sensitive, and reproducible HPLC analysis of amino. Agilent Technologies, Technical Note 5980–1193E.
- Ivanova, T.S., Bisko, N.A., Barshteyn, V.J., Krupodorova, T.A., 2010. Biologichno-aktyvni rehovyny grybiv viddilu Basidiomycota [Biologically active substances of fungi Basidiomycota]. Problemy Harchuvannja 1(2), 42–47.
- Jámbor, A., Molnár-Perl, I., 2009a. Amino acid analysis by high-performance liquid chromatography after derivatization with 9-fluorenylmethyloxycarbonyl chloride. Literature overview and further study. J. Chromatogr. A 1216, 3064–3077.
- Jámbor, A., Molnár-Perl, I., 2009b. Quantitation of amino acids in plasma by high performance liquid chromatography: Simultaneous deproteinization and derivatization with 9-fluorenylmethyloxycarbonyl chloride. J. Chromatogr. A 1216, 6218–6223.
- Kroneck, P.M.H., Sosa Torres M.E. (eds.), 2015. Sustaining life on planet earth: Metalloenzymes mastering dioxygen and other chewy gases. Springer International Publishing, Switzerland.
- Kuan, Y.C., Wu, Y.J., Hung, C.L., Sheu, F., 2013. *Trametes versicolor* protein YZP activates regulatory B lymphocytes–gene identification through *de novo* assembly and function analysis in a murine acute colitis model. PLoS ONE 8(9), e72422.
- Machara, Y., Tsujitani, S., Saeki, H., Oki, E., Yoshinaga, K., Emi, Y., Baba, H., 2012. Biological mechanism and clinical effect of protein-bound polysaccharide K (Krestin®): Review of development and future perspectives. Surg. Today 42(1), 8–28.
- Manirakiza, P., Covaci, A., Schepens, P., 2001. Comparative study on total lipid determination using soxhlet, roese-gottlieb, bligh and dyer, and modified bligh and dyer extraction methods. J. Food Compos. Anal. 14, 93–100.
- Patel, S., Goyal, A., 2012. Recent developments in mushrooms as anti-cancer therapeutics: A review. 3 Biotech. 2(1), 1–15.
- Sejfulla, R.D., Rozhkova, E.A., Kim, E.K., 2009. Antioksidanty [Antioxidants]. Jeksperimental'naja i Klinicheskaja Farmakologija 72(3), 60–64.
- Soden, D.M., Dobson, A.D., 2001. Differential regulation of laccase gene expression in *Pleurotus sajor-caju*. Microbiology 147(7), 1755–1763.
- Standish, L.J., Wenner, C.A., Sweet, E.S., Bridge, C., Nelson, A., Martzen, M., Torkelson, C., 2008. *Trametes versicolor* mushroom immune therapy in breast cancer. J. Soc. Integr. Oncol. 6(3), 122–128.
- Vasina, D.V., Mustafae, O.N., Moiseenko, K.V., Sadovskaya, N.S., Glazunova, O.A., Tyurin, A.A., Koroleva, O.V., 2015. The *Trametes hirsuta* 072 laccase multigene family: Genes identification and transcriptional analysis under copper ions induction. Biochimie 116, 154–164.
- Xiao, J.H., Chen, D.X., Wan, W.H., Hu, X.J., Qi, Y., Liang, Z.Q., 2006. Enhanced simultaneous production of mycelia and intracellular polysaccharide in submerged cultivation of *Cordyceps jiangxiensis* using desirability functions. Process Biochem. 41(8), 1887–1893.
- Zhi-Ling, C., 2009. Effect of some trace elements and vitamins on contents of polysaccharide and acid of *Ganoderma lucidum*. Journal of Anhui Agricultural Sciences 5, 078.
- Zong, A., Cao, H., Wang, F., 2012. Anticancer polysaccharides from natural resources: A review of recent research. Carbohydr. Polym. 90(4), 1395–1410.
- Zou, X., 2005. Effects of Zn supplementation on the growth, amino acid composition, polysaccharide yields and antitumour activity of *Agaricus brasiliensis*. World J. Microbiol. Biotechnol. 21(3), 261–264.

Надійшла до редколегії 10.03.2016