



УДК 579.222:547.979.8

Отримання та аналіз препаратів каротиноїдів деяких штамів ксилотрофних базидіоміцетів

А.К. Велигодська, О.В. Федотов

Донецький національний університет, Вінниця, Україна

Мета дослідження – обрати оптимальні умови отримання препаратів каротиноїдів міцеліального походження штамів базидіоміцетів *Laetiporus sulphureus* Ls-08, *Fomes fomentarius* Ff-1201 і *Fistulina hepatica* Fh-18 та дослідити антибактеріальну та загальну антиоксидантну активність цих сполук. Штами вирощували поверхнево на модифікованому для кожного продуцента глюкозо-пептонному середовищі. Міцелій штамів гомогенізували, пігменти екстрагували етиловим спиртом і відганяли розчинник під вакуумом за 60 °С. Спектри поглинання препаратів каротиноїдів реєстрували у спиртових розчинах за довжини хвилі 350–500 нм. Антибактеріальну активність препаратів каротиноїдів визначали методом дифузії в агар, а загальну антиоксидантну активність – DPPH-методом. Оптимальна температура екстракції каротиноїдів – 60 °С. У спектрах поглинання каротиноїдних препаратів виявлено максимуми 420, 450 та 470 нм, які відповідають β-каротину. Найвищу антиоксидантну активність зафіксовано для препаратів каротиноїдів штамів *F. hepatica* Fh-18 та *L. sulphureus* Ls-08, отриманих за температури екстракції 40 та 60 °С відповідно. Антибактеріальна активність препаратів відносно тест-культур не залежить від видової приналежності мікроорганізмів. Препарати 20% концентрації штаму *L. sulphureus* Ls-08 мають найвищу антибактеріальну активність до тест-культур *Staphylococcus aureus* і *Escherichia coli*, а міцелію *F. hepatica* Fh-18 – до *Candida albicans*. Температура екстракції 60 °С оптимальна для виходу міцеліальних каротиноїдів досліджених штамів. Препарати каротиноїдів проявляють антибактеріальну активність відносно тестових культур мікроорганізмів. Найвища антиоксидантна активність властива препаратам каротиноїдів штамів *F. hepatica* Fh-18 та *L. sulphureus* Ls-08, що виділені за 40 та 60 °С відповідно.

Ключові слова: антибактеріальна активність; антиоксидантна активність; поверхневе культивування; екстракція

The production and analysis of carotenoid preparations from some strains of xylotrophic Basidiomycetes

A.K. Velygodska, O.V. Fedotov

Donetsk National University, Vinnytsia, Ukraine

The aim of the study was selection of optimal conditions for obtaining carotenoid drugs of mycelium origin from the basidiomycete strains *Laetiporus sulphureus* Ls-08, *Fomes fomentarius* Ff-1201 and *Fistulina hepatica* Fh-18 and the study of antibacterial and total antioxidant activity of these compounds. The strains were surface grown on a glucose-peptone medium modified for each producer. The homogenized pigments of the mycelium strains were extracted with ethanol and the solvent was separated under vacuum at 60 °C. The absorption spectra of the carotenoid drugs were recorded for alcoholic solutions at 350–500 nm. The antibacterial activity of the carotenoids was determined by the agar diffusion method, and the total antioxidant activity was determined by the DPPH-method. It was found that the optimum temperature for carotenoid extraction is 60 °C. The absorption spectra of carotenoid drugs showed three peaks in 420, 450 and 470 nm. These results respond to the β-carotene absorption spectra. The highest antioxidant activity was noted for carotenoid drugs from *F. hepatica* Fh-18 and *L. sulphureus* Ls-08 strains obtained at an extraction temperature of 40 and 60 °C respectively. The antibacterial activity of carotenoid drugs against the test cultures was not species dependent. Carotenoid drugs with a 20% concentrate obtained from the *L. sulphureus* Ls-08 strain had the highest antibacterial activity against the test cultures *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. Carotenoids from the mycelium of *F. hepatica* Fh-18 had the highest antibacterial activity against the test culture *Candida albicans*. Extraction temperature of 60 °C is optimal for mycelial yield of carotenoids from the studied strains. All preparations of

carotenoids exhibited antibacterial activity against the test microorganism cultures. The carotenoid drugs obtained at 40 and 60 °C from the strains *F. hepatica* Fh-18 and *L. sulphureus* Ls-08 respectively showed the highest antioxidant activity.

Keywords: antibacterial activity; antioxidant activity; surface cultivation; extraction

Вступ

Результати численних досліджень довели перспективність використання базидіоміцетів як основи комерційних лікувально-профілактичних препаратів (Wasser, 2010). У зв'язку з цим актуальні завдання мікології та біотехнології – не тільки пошук культур-продуцентів, а і розробка способів їх культивування та отримання біологічно активних речовин (БАР). Такі природні речовини порівняно з продуктами хімічного синтезу менш токсичні та більш ефективні для застосування в медичній практиці та виробництві (Fedotov, 2007; Pirog, 2010).

Серед широкоживаних натуральних пігментів особливе місце займають каротиноїди – речовини полієнової природи. Вони мають виражені антиоксидантні властивості та виконують у живій клітині численні фізіологічні функції: зв'язують синглетний кисень, стабілізують біологічні мембрани, блокують світло УФ-діапазону тощо (Gessler et al., 2003). Їм притаманна також провітамінна функція – окисний розпад цих сполук у тканинах зумовлює утворення вітаміну А (Britton, 1986; Kapich et al., 2008). Каротиноїди знайшли широке використання як барвники та антиоксиданти в різних галузях промисловості (Fedotov, 2007; Eldahshan et al., 2013). Важлива перевага отримання каротиноїдів мікологічного походження – відсутність сезонної залежності біотехнологічного виробництва, екологічна чистота одержаних препаратів, доступність сировинних ресурсів (Pirog, 2009).

У попередніх дослідженнях ми вивчили загальний вміст поліфенольних речовин і каротиноїдів у карпофорах 50 видів базидіоміцетів, з яких 27 належать до порядку Polyporales, а 23 – до порядку Agaricales (Fedotov et al., 2014). Результати досліджень стали основою виділення та подальшого вивчення культурально-морфологічних та біохімічних ознак штамів базидіоміцетів – перспективних продуцентів цих речовин: *Laetiporus sulphureus* Ls-08, *Fomes fomentarius* Ff-1201 та *Fistulina hepatica* Fh-18. Подальше культивування обраних штамів стало основою отримання каротиноїдів як міцеліального, так і позаклітинного походження (Fedotov et al., 2014; Veligodska et al., 2014). Мета цього дослідження – отримати та проаналізувати препарати каротиноїдів міцеліального походження відібраних культур базидіоміцетів.

Матеріал і методи досліджень

Об'єкти досліджень – три високопродуктивні штамів ксилотрофів: *Laetiporus sulphureus* (Bull.) Murrill Ls-08 та *Fomes fomentarius* (L.) Fr. Ff-1201 з порядку Polyporales та *Fistulina hepatica* (Schaeff.) Sibt. Fh-18 з порядку Agaricales (Fedotov et al., 2014). Вони зберігаються у Колекції культур базидіоміцетів кафедри фізіології рослин Донецького національного університету МОН України та депоновані у Колекції культур шапинкових грибів Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України (ІВК).

Досліджувані штами вирощували поверхнево за 27 ± 1 °C на глюкозо-пептонному середовищі (ГПС), модифікованому для кожного продуцента (Veligodska et al., 2014) рН середовища – 6,5 ± 0,1 для *F. fomentarius* Ff-1201 і *F. hepatica* Fh-18 та 3,5 ± 0,1 – для *L. sulphureus* Ls-08. Інокулюм (10-добові міцеліальні культури штамів на сусло-агарі) складав 5–7% від об'єму ГПС. Термін культивування становив 12–15 діб, до досягнення максимального рівня накопичення каротиноїдів у культурі (Fedotov et al., 2014).

Розроблено процес отримання препаратів міцеліальних каротиноїдів штамів *F. fomentarius* Ff-1201, *F. hepatica* Fh-18 та *L. sulphureus* Ls-08 (рис. 1).

По закінченні терміну культивування міцелій штамів відділяли від культуральної рідини шляхом фільтрування на капроновій тканині та піддавали механічній деградації за 20 °C. Отриманий гомогенат екстрагували етиловим спиртом (90%) у співвідношенні сировини та екстрагента 1 : 5 протягом 10 хв за 20, 40, 60 та 80 °C. Наступним етапом з екстрактів каротиноїдів, отриманих за різних умов, відганяли розчинник під вакуумом за температури не вище 60 °C.

Спектри поглинання отриманих препаратів каротиноїдів реєстрували у спиртових розчинах на спектрофотометрі Granum 722 у діапазоні 350–500 нм (Musienko et al., 2001).

Вивчення антибактеріальної активності препаратів каротиноїдів проводили методом дифузії в агар. Для цього готували двошарове середовище (ДС). Нижній шар ДС мав такий склад: агар – 20 г, KH_2PO_4 – 3 г, вода дистильована – 1 л, рН – 6,8–7,0; верхній шар – бульйон Хоттингера – 135 мг% амінного азоту, агар – 10 г, KH_2PO_4 – 3 г, вода дистильована – 1 л, рН – 6,8–7,0. До верхнього шару вносили культуру бактерій із розрахунку 20 тис. мікробних клітин/мл. Після цього робили лунки у середовищі діаметром 8 мм, у які вносили препарат каротиноїдів у різних розведеннях. Антибактеріальну активність препарату вивчали на тест-штамах, рекомендованих ВООЗ: *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 та *Candida albicans* ATCC 885/653. Для контрольного порівняння використовували водні розчини сангвіритрину (Вапу, 1993).

Для визначення загальної антиоксидантної активності (АОА) до 2,8 мл 60 мМ розчину DPPH у метанолі додавали 0,2 мл спиртового 1% розчину препарату каротиноїдів. Змінення оптичної густини розчину фіксували упродовж 15 хв на UV/VIS спектрометрі за довжини хвилі 517 нм. Відсоток змінення оптичної густини розчину визначали за формулою:

$$(\%) = [(A_0 - A_1)/(A_0)] \times 100,$$

де A_0 – оптична густина спиртового розчину DPPH; A_1 – оптична густина спиртового розчину DPPH через 15 хвилин додавання після препарату каротиноїдів (Okawa, 2001; Mołuneux, 2004).

Дослідження проводили у триразовій повторності. Отримані експериментальні дані піддавали статистичній обробці згідно з керівництвом (Priseds'kiy, 1999). Відмінності вважали статистично значущими за $P < 0,05$.



Рис. 1. Схема отримання та аналізу препаратів каротиноїдних пігментів із міцелію деяких штамів базидіальних грибів

Результати та їх обговорення

Температура екстракції істотно впливає на вихід препарату каротиноїдів (табл. 1). Максимальний вихід зафіксований за температури 60 °С для всіх штамів. Із підвищенням температури екстракції до 80 °С спостерігається зниження виходу препарату порівняно з максимальним значенням показника на 61, 57 та 53% – для штамів *L. sulphureus* Ls-08, *F. hepatica* Fh-18 та *F. fomentarius* Ff-1201 відповідно. Можливо, це пояснюється як низькою стабільністю молекул каротиноїдних пігментів за дії високих температур, так і початком процесу денатурації протеїнової фракції (Britton, 1986).

Ідентифікацію каротиноїдних пігментів отриманих препаратів проводили шляхом спектрофотометричного вимірювання показників екстинкції їх 10% розчинів в етиловому спирті (90%) за довжини хвилі 350–500 нм з інтервалом 50 нм (рис. 2).

Установлено наявність трьох максимумів у спектрах поглинання каротиноїдних препаратів, що припадають на 420, 450 та 470 нм. За літературними даними, ці максимуми характерні для спектра поглинання β-каротину. При цьому крива екстинкції для міцеліального препарату штаму *F. hepatica* Fh-18 більш згладжена, що може говорити про наявність у препараті деякої кількості лікопіну (Britton, 1986).

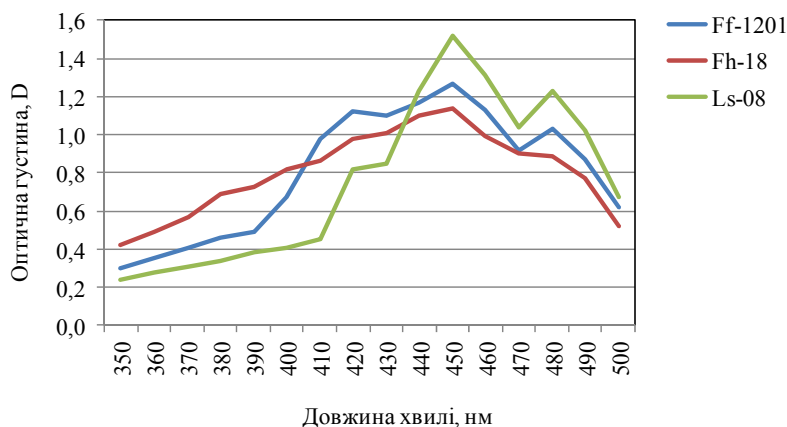


Рис. 2 Спектри поглинання спиртових розчинів каротиноїдних пігментів деяких штамів базидіоміцетів

Вихід препаратів каротиноїдів деяких штамів базидіоміцетів залежно від температури екстракції (n = 3)

Штам	Вихід, г/кг міцелію			
	20 °C	40 °C	60 °C	80 °C
<i>Laetiporus sulphureus</i> Ls-08	5,12 ± 0,05	5,87 ± 0,04*	6,24 ± 0,07*	2,39 ± 0,03*
<i>Fomes fomentarius</i> Ff-1201	3,02 ± 0,17	3,35 ± 0,02*	3,97 ± 0,04*	1,88 ± 0,20*
<i>Fistulina hepatica</i> Fh-18	3,13 ± 0,08	3,29 ± 0,03	3,63 ± 0,12*	1,41 ± 0,01*

Примітка: * – вірогідність відмінностей показників дослідних груп до відповідного контролю (20 °C), P < 0,05.

Наступним кроком визначали вплив температури екстракції на рівень загальної антиоксидантної активності препаратів (рис. 3). Найвищу загальну АОА зафіксовано для препаратів міцеліальних каротиноїдів штамів *F. hepatica* Fh-18 та *L. sulphureus* Ls-08, отриманих за температури екстракції 40 та 60 °C відповідно. Препарати каротиноїдів штаму *F. fomentarius* Ff-1201 демонстрували дещо нижчу АОА порівняно з попередніми штамми з максимумом АОА за температури екстракції 40 °C. За умови підвищення температури екстракції до 80 °C пігментні препарати всіх досліджених штамів суттєво втрачали АОА: на 68% – штаму *L. sulphureus* Ls-08, на 64% – *F. fomentarius* Ff-1201 та на 75% – *F. hepatica* Fh-18.

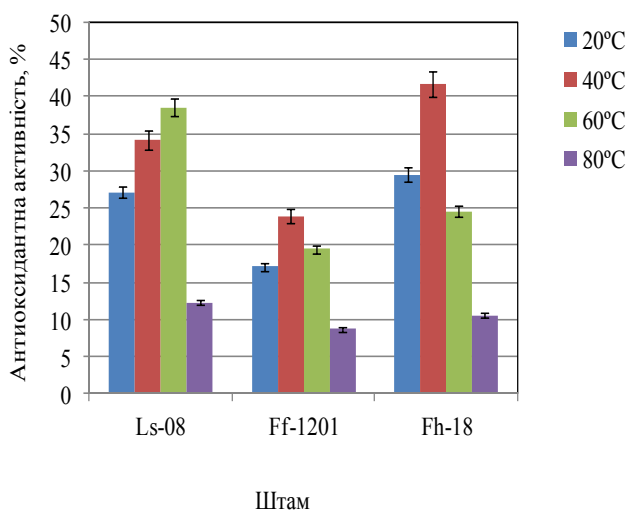


Рис. 3. Вплив температури екстракції каротиноїдів на загальну антиоксидантну активність отриманих препаратів (n = 3)

Зменшення рівня АОА препаратів із підвищенням температури екстракції, ймовірно, пов'язане з різницею складу екстрактів і частковою втратою активних форм молекул антиоксидантів.

Антибактеріальна активність отриманих препаратів каротиноїдних пігментів досліджених штамів (табл. 2) відносно тест-культур не залежить від видової приналежності мікроорганізмів: інгібуються як грам-позитивні (*S. aureus*), так і грам-негативні (*E. coli*) бактерії та гриб *C. albicans* рівною мірою. Оцінка зон затримання росту тест-культур для водного екстракту каротиноїдів показала, що активність порівнянна з дією 1% водного розчину сангвіритрину, і перебуває на рівні 15,7–32,1 мм. При цьому серед отриманих препаратів базидіоміцетів препарат із міцелію *L. sulphureus* Ls-08 проявив найвищу антибактеріальну активність відносно тест-культур *S. aureus* та *E. coli* у 20% концентрації. Препарат 20% концентрації каротиноїдів із міцелію *F. hepatica* Fh-18 мав

найвищу антибактеріальну активність серед усіх досліджених штамів відносно тест-культури *C. albicans*, але зона затримання росту гриба не перевищує аналогічний показник для 1% розчину сангвіритрину. Подальше підвищення концентрації препаратів каротиноїдів не викликає вірогідного збільшення зон затримання росту тест-культур.

Таблиця 2

Антибактеріальна активність міцеліальних препаратів каротиноїдів деяких штамів базидіоміцетів (n = 3)

Концентрація препарату, %	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Candida albicans</i>
	Зони затримання росту, мм		
<i>Laetiporus sulphureus</i> Ls-08			
25	24,6 ± 0,2*	32,7 ± 0,4*	25,5 ± 0,5*
20	24,2 ± 0,3*	32,7 ± 0,6*	25,2 ± 0,9*
15	21,8 ± 0,2*	31,2 ± 0,2*	23,4 ± 0,8*
10	19,5 ± 0,5*	24,7 ± 0,7*	22,7 ± 0,1*
5	17,9 ± 0,1*	19,9 ± 0,3*	18,3 ± 0,2*
1	12,5 ± 0,9*	15,1 ± 0,1	15,9 ± 0,4
<i>Fomes fomentarius</i> Ff-1201			
25	18,2 ± 0,2*	21,6 ± 0,3*	20,8 ± 0,4*
20	18,1 ± 0,1*	21,5 ± 0,6	20,4 ± 0,5*
15	17,9 ± 0,2*	19,9 ± 0,7	19,5 ± 0,4*
10	16,5 ± 0,4	18,2 ± 0,8	18,7 ± 0,7*
5	13,8 ± 0,5*	17,3 ± 0,1	17,3 ± 0,3*
1	11,2 ± 0,9*	13,2 ± 0,3	15,3 ± 0,9
<i>Fistulina hepatica</i> Fh-18			
25	19,7 ± 0,1*	15,8 ± 0,2*	27,7 ± 0,3*
20	19,4 ± 0,2*	15,7 ± 0,1*	27,5 ± 0,8*
15	18,9 ± 0,1*	13,2 ± 0,5*	24,1 ± 0,6*
10	17,2 ± 0,8	12,6 ± 0,2*	22,3 ± 0,7*
5	14,1 ± 0,6	10,1 ± 0,9*	17,8 ± 0,1*
1	13,9 ± 0,1	10,0 ± 0,3*	15,4 ± 0,4*
Сангвіритрин (контроль)			
1,00	22,2 ± 0,6	22,9 ± 0,2	32,2 ± 0,6
0,75	22,0 ± 0,5	21,5 ± 0,2	31,0 ± 0,4
0,50	19,7 ± 0,1	19,1 ± 0,5	30,1 ± 0,4
0,10	17,4 ± 0,4	19,8 ± 0,8	25,2 ± 0,7
0,05	15,1 ± 0,2	17,5 ± 0,2	19,3 ± 0,3
0,01	13,8 ± 0,4	14,2 ± 0,5	16,1 ± 0,1

Примітка: * – вірогідність відмінностей показників дослідних груп до відповідного контролю (сангвіритрин), P < 0,05.

Для порівняння результатів виходу препаратів каротиноїдів деяких штамів базидіоміцетів залежно від температури екстракції наводимо продуктивність інших природних джерел каротиноїдів. Серед рослин плоди *Lyium barbarum* мають вміст каротину – 37,7 мг/г та лікопіну – 19,6 мг/г сухої маси (Bunghuez et al., 2012). Плоди *Capsicum spp.* теж багаті на каротиноїди, вміст яких перебуває в межах 0,48–3,20 г на 100 г сухої маси (Gomez-Garcia et al., 2013). Зразки пальмової олії різного сортового походження мають загальний вміст каротиноїдів 357–1 222 мг/кг (Santos et al., 2015). Виявлено мікро-

водорості *Nannochloropsis gaditana*, багаті на ці пігменти – 52 нг/10⁶ клітин (Cazzonelli et al., 2011). Серед грибів для високопродуктивних штамів дріжджів *Rhodotorula glutinis* зафіксовано загальний вміст каротиноїдів у КФ – 1,6 мг/л (El-Rhman El-Banna et al., 2012).

Виявлені продуценти потребують розроблення способів отримання каротиноїдів. Виходячи з даних дослідження та літературних джерел, оптимальними речовинами для екстракції цих пігментів різного біологічного походження є етиловий спирт, гексан і хлороформ (Pintea et al., 2003; Arvayo-Enriquez et al., 2013; Regal et al., 2014). Каротиноїди мають визнану антиканцерогенну, імуномодельовальну, антиоксидантну дію, пригнічують процеси фотосенсибілізації та знижують ризик серцево-судинних хвороб, що зумовлює перспективність подальшого вивчення властивостей, отриманих у ході дослідження препаратів (Eldahshan et al., 2013; Fiedor et al., 2013).

Висновки

Розроблено спосіб і вперше отримано препарати каротиноїдів міцеліального походження штамів *L. sulphureus* Ls-08, *F. fomentarius* Ff-1201 та *F. hepatica* Fh-18. Проведено їх аналіз і встановлено деякі індивідуальні характеристики. Температура екстракції 60 °С оптимальна для виходу каротиноїдів для культивованих штамів. Найвищу загальну антиоксидантну активність зафіксовано для препаратів міцеліальних каротиноїдів штамів *F. hepatica* Fh-18 та *L. sulphureus* Ls-08, отриманих за температури екстракції 40 та 60 °С відповідно. Досліджені препарати проявляли антибактеріальну активність відносно тестових культур мікроорганізмів *S. aureus*, *E. coli* та *C. albicans*. Препарат із міцелію штаму *L. sulphureus* Ls-08 проявляв найвищу антибактеріальну активність відносно бактерій *S. aureus* та *E. coli* у 20% концентрації, а каротиноїди штаму *F. hepatica* Fh-18 – відносно тест-культури *C. albicans*. Отримані препарати каротиноїдів деяких штамів ксилотрофів мають антиоксидантні та антибактеріальні властивості, що зумовлює перспективи їх практичного застосування.

Дослідження виконане в рамках програми прикладних досліджень Міністерства освіти і науки України (проект № 0115U000090). Висловлюємо щире подяку науковим співробітникам відділу мікології Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України за співпрацю, надані матеріали Колекції культур шапинкових грибів (ІБК), що має статус Національного надбання України.

Бібліографічні посилання

- Arvayo-Enriquez, H., Mondaca-Fernandez, I., Gortarez-Morooyoqui, P., Lopez-Cervantes, J., Rodriguez-Ramirez, R., 2013. Carotenoids extraction and quantification: A review. *Analytical Methods* 5(12), 2916–2925.
- Barry, A.L., 1993. Susceptibility tests: Diffusion test procedures. ASM Press, Washington D.C.
- Britton, G., 1986. *Biokhimiya prirodnykh pigmentov* [Biochemistry of natural pigments]. Mir, Moscow (in Russian).
- Bunghuez, I.R., Avramescu, S.M., Neata, M., Radulescu, G., Ion, R., 2012. Obtaining of carotenoid extract from *Lycium chinense* and characterization using spectrometrical analysis. *Dig. J. Nanomater. Biostruct.* 7(2), 523–528.
- Cazzonelli, C.I., 2011. Carotenoids in nature: Insights from plants and beyond. *Funct. Plant Biol.* 38, 833–847.
- Eldahshan, O.A., Singab, A.N., 2013. Carotenoids. *J. Pharmacogn. Phytochem.* 2(1), 225–234.
- El-Rhman El-Banna, A.A., El-Razek, A.M., El-Mahdy, A.A., 2012. Isolation, identification and screening of carotenoid-producing strains of *Rhodotorula glutinis*. *Food and Nutrition Sciences* 3(5), 627–633.
- Fedotov, O.V., 2007. Wood-destroying fungi as bio-sources of ferments for medicinal and nutritional purposes. *Plant and microbial enzymes: Isolation, characterization and biotechnology applications.* Myza, Tbilisi 125–131.
- Fedotov, O.V., Veligodskaya, A.K., 2014. Search producers of polyphenols and some pigments among Basidiomycetes. *Biotechnol. Acta* 7(1), 110–116.
- Fiedor, J., Burda, K., 2014. Potential role of carotenoids as antioxidants in human health and disease. *Nutrients* 4, 466–488.
- Gessler, N.N., Sokolov, A.B., Belozerskaya, T., 2003. Uchastiye β -karotina v antioksidantnoy zashchite gribnoy kletki [The participation of β -carotene in antioxidant protection of fungal cells]. *Appl. Biochem. Microbiol.* 39, 427–429 (in Russian).
- Gómez-García, M.R., Ochoa-Alejo, N., 2013. Biochemistry and molecular biology of carotenoid biosynthesis in chili peppers (*Capsicum spp.*). *Int. J. Mol. Sci.* 14, 19025–19053.
- Kapich, A.N., Gvozdkova, T.S., Kvacheva, Z.B., 2008. Antioksidantnyye, radiozashchitnyye i protivovirusnyye svoystva ekstraktov mitseliya griba *Laetiporus sulphureus* [Antioxidant, radioprotective and antiviral properties of the extracts of the mycelium fungus *Laetiporus sulphureus*]. *Successes of Medical Mycology.* US, Moscow. P. 146–148 (in Russian).
- Molyneux, P., 2004. The use of the stable free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarin J. Sci. Technol.* 26(2), 211–219.
- Musienko, M.M., Parshikova, T.V., Slavnyi, P.S., 2001. Spektrofotometricheskiye metody v praktike fiziologii, biokhimi i ekologii rasteniy [Spectrophotometric methods in the practice of physiology, biochemistry and ecology of plants]. *Naukova Dumka, Kiev* (in Russian).
- Okawa, M., 2001. DPPH (1,1-Diphenyl-2-Picrylhydrazyl) radical scavenging activity of flavonoids obtained from some medical plants. *Biol. Pharm. Bull.* 24(10), 1202–1205.
- Pintea, A., Bele, C., Andrei, S., Socaciu, C., 2003. HPLC analysis of carotenoids in four varieties of *Calendula officinalis* L. flowers. *Acta Biologica Szegediensis* 47, 37–40.
- Pirog, T.P., 2010. *Biotehnologia* [Biotechnology]. NUHT, Kyiv (in Ukrainian).
- Priseds'kiy, Y.G., 1999. Statystychna obrobka rezul'tativ biolohichnykh eksperymentiv [Statistical processing of biological experiments results]. *Kassiopeya, Donetsk* (in Ukrainian).
- Regal, P., Amorim-Carrilho, K.T., Cepeda, A., Fente, C., 2014. Review of methods for analysis of carotenoids. *Trends in Analytical Chemistry* 56, 3–64.
- Santos, M.F.G., Alves, R.E., Roca, M., 2015. Carotenoid composition in oils obtained from palm fruits from the Brazilian Amazon. *Grasas Aceites* 66(3), 43–51.
- Veligodskaya, A.K., Fedotov, O.V., Petreeva, A.S., 2014. Vplyv dzherel azotnoho zhyvlennya na syntez karotynoyidiv deyakymy shtamamy bazydiomitsetiv [Effect of nitrogen nutrition sources on carotenoids synthesis for some basidiomycetes strains]. *Biological Bulletin of Bogdan Chmelnytskyi Melitopol State Pedagogical University* 4(1), 22–34 (in Ukrainian).
- Wasser, S.P., 2010. Medicinal mushroom science: History, current status, future trends, and unsolved problems. *Int. J. Med. Mush.* 12(1), 1–16.

Надійшла до редколегії 04.07.2016