

УДК 579.24:582.284.3

Л.О. Тітова, І.Р. Клечак

Національний технічний університет України "КПІ", Київ, Україна

**ОСОБЛИВОСТІ КУЛЬТИВУВАННЯ ВИЩОГО БАЗИДІАЛЬНОГО ГРИБА *TRAMETES ZONATUS* НА РІДКИХ СЕРЕДОВИЩАХ**

**Background.** The basidiomycetes *T. zonatus* are producers and cellulose oxidative enzymes and polysaccharides with antitumor activity. The feasibility of this study is that the creation of functional food biotechnology from strains of biomass from domestic collections is not enough initial data: fragmentary data on cultivation conditions and culture medium composition, biochemical biomass of *T. zonatus*.

**Objective.** The aim of the study is to conduct screening of basidiomycetes strains *T. zonatus* liquid culture medium to determine the effect of the culture medium and the initial pH value of the concentration of biomass *T. zonatus* 5302, to study the amino acid composition of biomass obtained by submerged *T. zonatus* 5302 on an culture medium.

**Methods.** Objects of the research: thirteen basidiomycetes strains *T. zonatus* IBC. The Standard methods submerged and surface cultivation, conditions cultivation chosen for this strains. Biomass weight was determined by content of dry matter, in the culture broth – areometer method. The source of carbon and nitrogen added to the medium in an amount equimolar respectively to 20 g/dm<sup>3</sup> glucose in terms of carbon and 3 g/dm<sup>3</sup> NaNO<sub>3</sub> in terms of nitrogen. Amino acid composition of proteins after appropriate treatment was studied using amino acid analyzer T-339 ("Mikrotechna", Czech Republic).

**Results.** According to the results of screening the best strain found by growth characteristics *T. zonatus* 5302: concentration of biomass – 4.5 g/dm<sup>3</sup> productivity biosynthesis biomass – 0.6 g/dm<sup>3</sup>·day, the economic growth coefficient – 47 %. For culture medium *T. zonatus* 5302 selected the source of carbon, nitrogen, growth factors, initial pH culture medium.

**Conclusions.** The biomass *T. zonatus* 5302, got by submerged cultivation, in the proposed complex culture medium is characterized by a high content of tyrosine and methionine. Index biological value protein strain *T. zonatus* 5302 amounted to 0.59, which is equal to those of fungi such as *Pleurotus ostreatus* (0.52) and *Ganoderma lucidum* (0.48).

**Keywords:** Basidiomycetes; *Trametes zonatus*; screening; submerged cultivation; medium formulation; biomass.

**Вступ**

Базидіальні гриби виду *Trametes zonatus* – сапрофіти листяних і, як виняток, хвойних дерев. Вони викликають "білу гниль" дерев і тому мають комплекс целюлолітичних та окиснювальних ферментів. У дослідженнях В.П. Гаврилової [1] показано ефективність використання глибинного міцелію базидіоміцета *T. zonatus* як сорбенту для очистки стоків шкіряного виробництва та в переробці відходів льону. Базидіальний гриб *T. zonatus* представлений у сучасній фаховій літературі [2] як продуцент окиснювальних ферментів (зокрема, лакази). Крім комплексу ферментів, серед біологічних властивостей *T. zonatus* Н.В. Белова [3] відзначає протипухлинну дію полісахаридів.

Результати досліджень умов культивування, підбору складу середовищ, вивчення поживної цінності біомаси *T. zonatus*, отриманої глибинним культивуванням, у літературі подані уривчасто. Завдяки наявності в міцелії базидіальних грибів незамінних у харчуванні людини компонентів: амінокислот, вітамінів В, С, D<sub>2</sub>, мікроелементів тощо [4], ці гриби можуть бути цінним функціональним харчовим продуктом.

За даними літератури, для виду *T. zonatus* характерна штамова варіабельність відносно джерел живлення. Згідно з дослідженнями Х.Г. Ганбарова, найкращий ріст *T. zonatus* спостерігався на глюкозі (5,2 г/дм<sup>3</sup> біомаси) [5], за даними Н.А. Бісько – на мальтозі, лактозі та крохмалі (4,1 г/дм<sup>3</sup> біомаси) [6], а за даними В.І. Елісашвілі [7] – на мальтозі (10,5 г/дм<sup>3</sup> біомаси) та маніті (12,5 г/дм<sup>3</sup> біомаси). Отже, здатність засвоювати моно- та дисахариди значною мірою може змінюватись залежно від природи штаму одного і того ж виду гриба. Серед органічних джерел азоту кращий ріст грибів спостерігався на пептоні, в той час як сечовина засвоювалась погано. Відношення грибів роду *Trametes* до різних джерел амонійного азоту змінюється на рівні штаму, проте в більшості випадків [5] кращий ріст спостерігався при використанні як неорганічного джерела азоту сульфату амонію і нітрату амонію, які забезпечують концентрацію біомаси 4–5 г/дм<sup>3</sup> на 5-ту добу культивування.

При вивченні фізіології *T. zonatus* на рідких живильних середовищах у різних літературних джерелах показано, що діапазони значень рН, які забезпечують найбільшу кількість синтезованої біомаси, різняться: 4,0–4,5 [5] і 5,0 [6].

Актуальність нашого дослідження визначає той факт, що штами базидіальних грибів *T. zonatus*, які зберігаються в колекції шапинкових грибів Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України, раніше широко не досліджувались, і тому доцільним є проведення скринінгу перспективних штамів, дослідження умов культивування і обґрунтування складу живильного середовища, дослідження біохімічного складу біомаси *T. zonatus* для пошуку прикладних аспектів застосування гриба цього виду.

### Постановка задачі

Мета роботи – провести скринінг штамів базидіальних грибів *Trametes zonatus* на рідких середовищах; встановити вплив складу середовища та значення вихідного рН середовища на показники росту *T. zonatus* 5302; вивчити амінокислотний склад біомаси, отриманої при глибинному культивуванні *T. zonatus* 5302 на комплексному середовищі.

### Матеріали і методи дослідження

Об'єкти дослідження – тринадцять штамів базидіальних грибів *Trametes zonatus* (Nees) Quel. (за міжнародною базою систематики грибів CABI Bioscience) 301, 1525, 1561, 1570, 5021, 5022, 5133, 5134, 5135, 5300, 5301, 5302, 5303 із Колекції шапинкових грибів Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України [9]. Інші синонімічні назви цього виду *Coriolus zonatus* (Fr.) Quel., *Trametes ochracea* (Pers.) Gilbe & Ryvarden.

Скринінг на рідких живильних середовищах проводили у глибинній культурі на п'яти рідких середовищах: глюкозо-пептонному [6], картопляно-глюкозному [6], молочній сироватці, пивному суслі 8° за Балінгом та середовищі Норкранс [6].

Культивування здійснювали в колбах Ерленмеєра ємністю 250 см<sup>3</sup> з 50 см<sup>3</sup> середовища, кількість посівного матеріалу – 10 % (об'ємна частка), перемішування – 120 хв<sup>-1</sup> на качалках ЛАБ-ПУ-01, тривалість культивування – 7 діб, температура – 30 ± 1 °С, рН 5,03–7,02 (залежно від живильного середовища).

Проби для визначення біохімічних характеристик росту культури (рН, накопичення біомаси, концентрація сухих речовин) відбирали, завершивши культивування. Кількість біомаси

визначали ваговим методом [10] і перераховували на 1 дм<sup>3</sup>, вміст сухих речовин у культуральній рідині – ареометричним методом [10], економічний коефіцієнт росту розраховували відповідно до [6], продуктивність біосинтезу біомаси розраховували відповідно до [8].

Вплив природи джерел вуглецю, азоту, факторів росту та вплив значення вихідного рН середовища на ріст штамів досліджували на середовищі: 20 г/дм<sup>3</sup> глюкози, 3 г/дм<sup>3</sup> пептону ферментативного, 1 г/дм<sup>3</sup> K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 1 г/дм<sup>3</sup> KН<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0,25 г/дм<sup>3</sup> MgSO<sub>4</sub>, рН 6,5. Як джерела вуглецю до живильних середовищ додавали окремо такі речовини: глюкозу, лактозу, галактозу, мальтозу, сахарозу, фруктозу, ксилозу, арабінозу, інозит, сорбіт, маніт, крохмаль у кількості, що була еквімолярна 20 г/дм<sup>3</sup> глюкози в перерахунку на вуглець. Як джерела азоту були використані хлорид амонію, нітрат амонію, сульфат амонію, дигідрофосфат амонію, нітрат амонію, пептон у кількості, що була еквімолярна 3 г/дм<sup>3</sup> NaNO<sub>3</sub> у перерахунку на азот.

Як джерела ростових факторів використовували пивне сусло (вміст редуруючих цукрів 20 г/дм<sup>3</sup> у перерахунку на глюкозу), екстракт виноградної вичавки (0,5 %, об'ємна частка), кукурудзяний екстракт (0,5 %, об'ємна частка), відвар дубової кори (0,5 %, об'ємна частка).

Досліджували значення вихідного рН 3,5; 4,0; 4,5; 5,0; 5,5; 6,0; 6,5. рН середовища до заданих значень корегували до стерилізації за допомогою 1 Н НСІ або 1 Н NaOH.

Одержані кількісні результати накопичення біомаси були опрацьовані статистично за допомогою Microsoft Excel.

Амінокислотний склад білків після відповідної обробки досліджували за допомогою амінокислотного аналізатора Т-339 ("Mikrotechna", Чехія).

### Результати і їх обговорення

Скринінг штамів базидіальних грибів *T. zonatus* у глибинній культурі проводили на рідких живильних середовищах, що за складом поділяються на такі: природні (пивне сусло 8° за Балінгом, молочна сироватка), комплексні (глюкозо-пептонне і картопляно-глюкозне) та синтетичні (середовище Норкранс). Відбір штаму здійснювали відповідно до значень концентрації біомаси й економічного коефіцієнта росту.

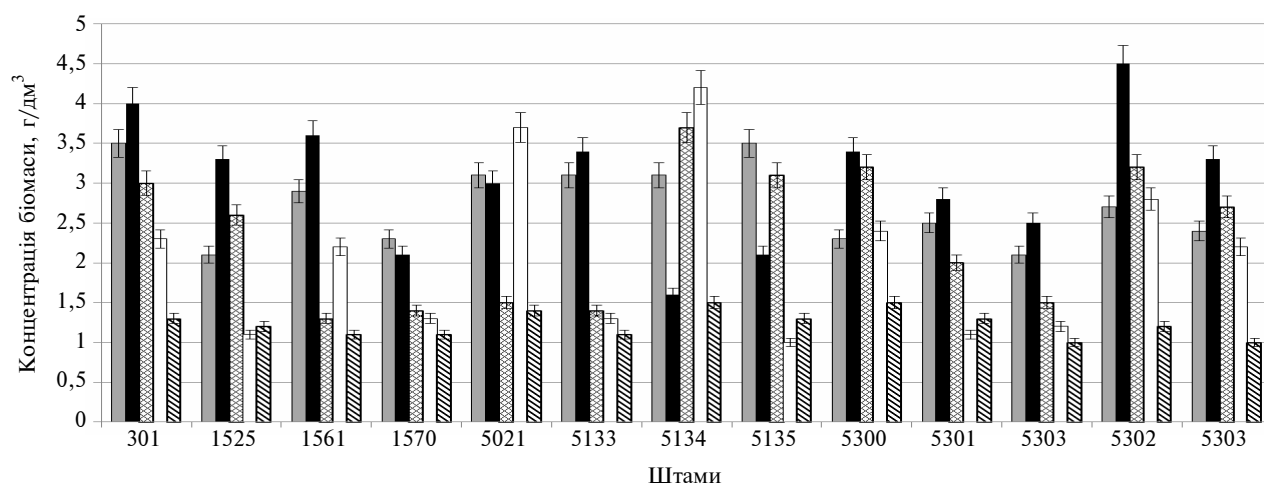


Рис. 1. Концентрація біомаси *T. zonatus* при глибинному культивуванні на середовищах різного складу ( $p < 0,05$ , статистично достовірні зміни); ■ — пивне сусло, ■ — глюкозо-пептонне середовище, ▨ — картопляно-глюкозне середовище, □ — молочна сироватка, ▩ — середовище Норкранс

За результатами дослідження показано, що значення концентрації синтезованої біомаси тринадцяти штамів *T. zonatus* були в межах від 1,7 до 4,5 г/дм<sup>3</sup> (рис. 1). Аналіз значень концентрацій біомаси *T. zonatus* дав змогу розташувати використані для культивування живильні середовища у порядку зменшення максимальних концентрацій біомаси штамів, які були отримані за сім діб культивування на кожному середовищі, таким чином: глюкозо-пептонне середовище (4,5 г/дм<sup>3</sup> біомаси для штаму 5302) — молочна сироватка (4,2 г/дм<sup>3</sup> для штаму 5133) — картопляно-глюкозне середовище (3,7 г/дм<sup>3</sup> біомаси для штаму 5133) — пивне сусло (3,5 г/дм<sup>3</sup> біомаси для кожного із двох штамів 301 і 5134) — середовище Норкранс (1,5 г/дм<sup>3</sup> біомаси для кожного із двох штамів 5133 і 5135).

У глибинній культурі для *T. zonatus* був характерний ріст у вигляді круглих пелет із ворсинками. Для швидкоростучих штамів *T. zonatus* 301, 5133 і 5302, які накопичували вище 4,0 г/дм<sup>3</sup> біомаси на молочній сироватці і глюкозо-пептонному середовищі, був характерний дисперсний та дрібноглобулярний ріст у вигляді кульок розміром від менш ніж 0,1 до 0,3 см з ворсинками. За даними [6], всередині пелет розміром до 0,3 см відсутній лізис міцелію, що свідчить про сприятливі умови культивування.

Результати розрахунку економічних коефіцієнтів росту міцелію *T. zonatus* (табл. 1) дали змогу встановити, що ефективність використання компонентів досліджених середовищ для синтезу біомаси найбільша у трьох штамів, для яких значення економічного коефіцієнта росту перевищувало 40 %: у штамів 301 і 5302 (глю-

козо-пептонне середовище) та у штаму 5021 (молочна сироватка).

При культивуванні на рідких середовищах значення економічного коефіцієнта росту від 10 до 12 % [6] свідчить про те, що енергія поживних речовин використовується міцелієм гриба в основному на дихання. В наших дослідженнях такі низькі значення економічного коефіцієнта росту були відзначені на середовищі Норкранс для семи штамів (301, 1525, 1561, 5022, 5134, 5300 і 5303) і на молочній сироватці для трьох штамів (1525, 5134 і 5300).

Найкращі кількісні показники серед тринадцяти штамів спостерігали у штаму *T. zonatus* 5302 при культивуванні на глюкозо-пептонному середовищі (див. табл. 1): концентрація біомаси — 4,5 г/дм<sup>3</sup>, продуктивність біосинтезу біомаси — 0,6 г/дм<sup>3</sup>·добу, економічний коефіцієнт росту — 47 %. Отже, за результатами скринінгу на рідких середовищах різного складу вибрано штам *T. zonatus* 5302 і глюкозо-пептонне середовище.

Зважаючи на значний вплив природи джерела вуглецевого і азотного живлення, а також факторів росту і значення рН середовища на приріст біомаси та її біологічні властивості, для штаму *T. zonatus* 5302 було досліджено вплив цих факторів на показники росту (концентрацію біомаси, продуктивність біосинтезу біомаси) штаму.

За результатами дослідження встановлено, що вищі значення концентрації біомаси в межах від 4,2 до 6,3 г/дм<sup>3</sup> були отримані при культивуванні на середовищах з моносахаридами глюкозою або фруктозою, а також на середо-

вищах з дисахаридами мальтозою або сахарозою, що вказує на наявність у штаму ферментів, здатних розщеплювати  $\alpha$ -глікозидний зв'язок мальтози і глюкозо-фруктозний зв'язок сахарози.

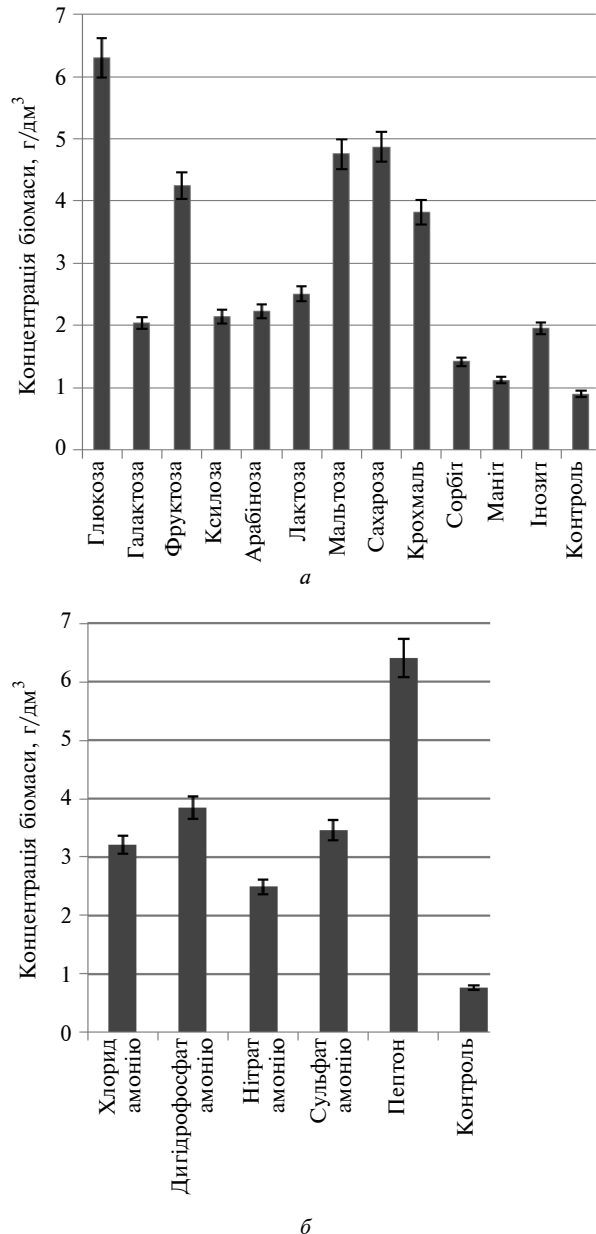
**Таблиця 1.** Економічний коефіцієнт росту і продуктивність біосинтезу біомаси *T. zonatus* при глибинному культивуванні на живильних середовищах різного складу

| Штам | Показник                    | Середовище |     |     |     |     |
|------|-----------------------------|------------|-----|-----|-----|-----|
|      |                             | КГ         | ГП  | ПС  | МС  | СН  |
| 301  | Y, %                        | 35         | 40  | 32  | 24  | 11  |
|      | P, г/ дм <sup>3</sup> ·добу | 0,4        | 0,6 | 0,5 | 0,3 | 0,2 |
| 1525 | Y, %                        | 35         | 37  | 22  | 11  | 12  |
|      | P, г/ дм <sup>3</sup> ·добу | 0,4        | 0,6 | 0,3 | 0,2 | 0,2 |
| 1561 | Y, %                        | 18         | 35  | 30  | 28  | 7   |
|      | P, г/ дм <sup>3</sup> ·добу | 0,2        | 0,5 | 0,4 | 0,3 | 0,2 |
| 1570 | Y, %                        | 23         | 20  | 31  | 22  | 16  |
|      | P, г/ дм <sup>3</sup> ·добу | 0,2        | 0,3 | 0,3 | 0,2 | 0,2 |
| 5021 | Y, %                        | 15         | 33  | 28  | 42  | 27  |
|      | P, г/ дм <sup>3</sup> ·добу | 0,2        | 0,4 | 0,4 | 0,6 | 0,2 |
| 5022 | Y, %                        | 13         | 35  | 25  | 18  | 11  |
|      | P, г/ дм <sup>3</sup> ·добу | 0,2        | 0,5 | 0,4 | 0,2 | 0,2 |
| 5133 | Y, %                        | 30         | 28  | 25  | 34  | 23  |
|      | P, г/ дм <sup>3</sup> ·добу | 0,5        | 0,2 | 0,4 | 0,6 | 0,2 |
| 5134 | Y, %                        | 30         | 29  | 35  | 12  | 11  |
|      | P, г/ дм <sup>3</sup> ·добу | 0,4        | 0,3 | 0,5 | 0,1 | 0,2 |
| 5135 | Y, %                        | 32         | 34  | 26  | 25  | 16  |
|      | P, г/ дм <sup>3</sup> ·добу | 0,5        | 0,5 | 0,3 | 0,3 | 0,2 |
| 5300 | Y, %                        | 22         | 35  | 22  | 11  | 13  |
|      | P, г/ дм <sup>3</sup> ·добу | 0,3        | 0,4 | 0,3 | 0,2 | 0,2 |
| 5301 | Y, %                        | 15         | 29  | 29  | 22  | 19  |
|      | P, г/ дм <sup>3</sup> ·добу | 0,2        | 0,4 | 0,3 | 0,2 | 0,2 |
| 5302 | Y, %                        | 32         | 47  | 29  | 31  | 17  |
|      | P, г/ дм <sup>3</sup> ·добу | 0,5        | 0,6 | 0,4 | 0,4 | 0,2 |
| 5303 | Y, %                        | 22         | 32  | 34  | 22  | 10  |
|      | P, г/ дм <sup>3</sup> ·добу | 0,4        | 0,5 | 0,3 | 0,4 | 0,1 |

**Примітки.** Аббревіатури середовищ: ПС – пивне сусло, МС – молочна сироватка, ГП – глюкозо-пептонне середовище, КГ – картопляно-глюкозне середовище, СН – середовище Норкранс; Y – економічний коефіцієнт росту *T. zonatus* за сухими речовинами, %;  $p < 0,05$ , статистично достовірні зміни.

При дослідженні впливу природи джерела азоту на ріст *T. zonatus* 5302 було показано, що найбільша концентрація біомаси була отримана при культивуванні на середовищі з пептоном 6,4 г/дм<sup>3</sup> і дигідрофосфатом амонію 3,8 г/дм<sup>3</sup> (рис. 2, б). Оскільки в деяких джерелах бракує вихідних даних (не вказано кількість посівного матеріалу, тривалість культивування), то важко

порівняти вже існуючі дані з результатами власних експериментальних досліджень.



**Рис. 2.** Вплив природи джерел вуглецю (а) і азоту (б) на концентрацію біомаси *T. zonatus* 5302 при стаціонарному культивуванні ( $p < 0,05$ , статистично достовірні зміни)

Важливість такого фізико-хімічного фактора, як концентрація водневих іонів (рН), зумовлена впливом на здатність засвоювати джерела живлення і біологічну активність культур. Встановлено, що при вихідному рН середовища 5,5 і 6,0 концентрація біомаси *T. zonatus* 5302 була найбільшою і становила 6,5 г/дм<sup>3</sup> при значеннях економічного коефіцієнта росту міцелію 43 і 47 % відповідно (рис. 3, а).

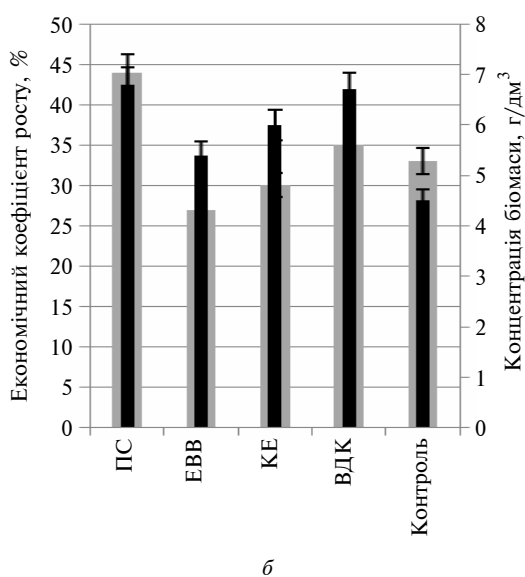
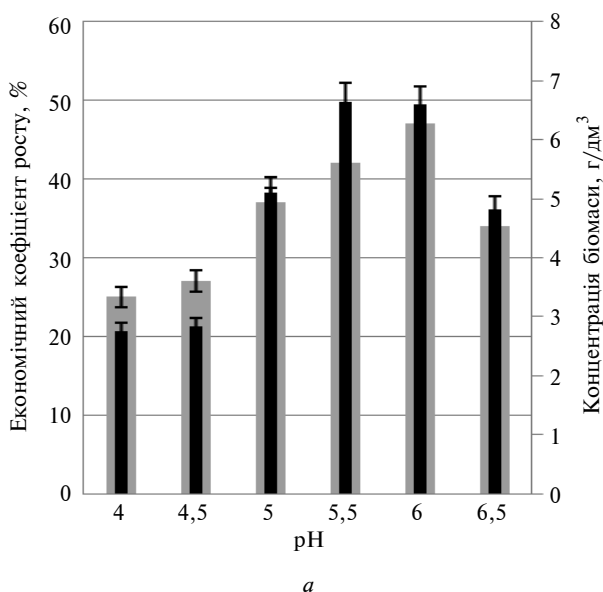


Рис. 3. Вплив значення вихідного рН середовища (а) та природи джерел (б) ростових факторів на показники росту біомаси *T. zonatus* 5302 при стаціонарному культивуванні ( $p < 0,05$ , статистично достовірні зміни): ■ – концентрація біомаси, ■ – економічний коефіцієнт росту, ПС – пивне сусло, ЕВВ – екстракт виноградної вичавки, КЕ – кукурудзяний екстракт, ВДК – відвар дубової кори

За даними літератури [6, 8, 10] було проаналізовано компонентний склад пивного сусла, екстракту виноградної вичавки, кукурудзяного екстракту, відвару дубової кори і показано, що вони можуть бути джерелом факторів росту для базидіальних грибів. Пивне сусло містить мальтозу, крохмаль і вітаміни групи В (тіамін, рибофлавін, пантотенову кислоту, піридоксин) [4]. Екстракт виноградної вичавки є про-

дуктом переробки винограду, містить 4 % сухих речовин, з них 1,4 % простих вуглеводів, до 0,04 % загального азоту, в т.ч. 0,6 г/дм<sup>3</sup> амінокислот і 0,14 г/дм<sup>3</sup> білка, 0,8 г/дм<sup>3</sup> полісахаридів, вітаміни (тіамін, піридоксин, ніацин) [10]. Відвар дубової кори містить 10–20 % дубильних речовин пірогаллової групи, пентозани (до 13–14 %), пектини (до 6 %), крохмаль [6]. Кукурудзяний екстракт містить вітаміни (тіамін, пантотенову й аскорбінову кислоти) [6].

При дослідженні впливу природи джерела факторів росту на біосинтез біомаси було показано, що при культивуванні штаму 5302 на середовищі з додаванням 1 % пивного сусла або 0,5 % відвару дубової кори (див. рис. 3, б) спостерігалось найбільше значення концентрації біомаси 6,8 г/дм<sup>3</sup> при економічному коефіцієнті росту 44 %.

Таблиця 2. Склад амінокислот біомаси *T. zonatus* 5302 і комплексного середовища для культивування

| Амінокислота                    | Відсоток від загальної кількості |           |
|---------------------------------|----------------------------------|-----------|
|                                 | Комплексне середовище            | Біомаса   |
| Валін                           | 5,42                             | 4,85      |
| Ізолейцин                       | 4,55                             | 4,37      |
| Лейцин                          | 7,18                             | 8,31      |
| Лізин                           | 6,9                              | 5,72      |
| Метіонін+цистін*                | 0,61+1,42                        | 2,54+1,43 |
| Треонін                         | 5,32                             | 5,35      |
| Фенілаланін+тирозин*            | 4,85+1,35                        | 6,14+4,07 |
| Сума незамінних амінокислот (E) | 34,83                            | 37,13     |
| Аланін                          | 7,36                             | 6,75      |
| Аргінін                         | 5,0                              | 5,03      |
| Аспарагінова кислота            | 12,74                            | 10,68     |
| Гістидин                        | 2,05                             | 2,55      |
| Гліцин                          | 5,28                             | 6,63      |
| Глутамінова кислота             | 20,53                            | 13,5      |
| Пролін                          | 3,82                             | 5,87      |
| Серин                           | 5,62                             | 6,19      |
| Сума замінних амінокислот (N)   | 65,17                            | 62,87     |
| E/N                             | 0,53                             | 0,59      |

\* Потреба організму людини в метіоніні задовольняється на 80–89 % замінною амінокислотою цистіном, а у фенілаланіні – на 70–75 % замінною амінокислотою тирозином, тому обидві названі пари амінокислот оцінюють разом.

Отримані нами дані щодо впливу природи джерел вуглецевого і азотного живлення, факторів росту і впливу значення вихідного рН живильного середовища на концентрацію біомаси при культивуванні *T. zonatus* 5302 були використані при постановці дробового факторного експерименту, репліка 2<sup>4-1</sup>, і розрахунку складу комплексного середовища: 15 г/дм<sup>3</sup> глюкози, 20 г/дм<sup>3</sup> пивного суслу 8° за Балінгом, 3,1 г/дм<sup>3</sup> (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1,0 г/дм<sup>3</sup> K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 1,0 г/дм<sup>3</sup> KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 0,25 г/дм<sup>3</sup> MgSO<sub>4</sub>, 3,0 г/дм<sup>3</sup> дріжджового екстракту, рН 6,0 [11].

Встановлено, що при культивуванні штаму *T. zonatus* 5302 на комплексному середовищі запропонованого складу [11] білок біомаси (табл. 2) мав підвищений вміст проліну в 1,5 разу, гліцину в 1,3 разу, фенілаланіну в 1,3 разу, тирозину в 3 рази, метіоніну в 4,1 разу порівняно із середовищем культивування.

Показник біологічної цінності білка (відношення вмісту незамінних амінокислот до вмісту замічних) біомаси штаму *T. zonatus* 5302 становив 0,59, що близько до відповідних показників білка біомаси таких грибів, як *Pleurotus ostreatus* (0,52) і *Ganoderma lucidum* (0,48) [8].

## Висновки

1. За результатами проведення скринінгу в глибинній культурі за комплексом ознак (концентрація біомаси, продуктивність біосинтезу біомаси, економічний коефіцієнт росту) вибрано перспективний для накопичення біомаси штам *T. zonatus* 5302: концентрація біомаси – 4,5 г/дм<sup>3</sup>, продуктивність біосинтезу біомаси – 0,6 г/дм<sup>3</sup>·добу, економічний коефіцієнт росту – 47 %.

2. Встановлено, що для швидкоростучих штамів *T. zonatus* 301, 5133 і 5302 при культивуванні на молочній сироватці і глюкозо-пептон-

ному середовищі характерний дисперсний і дрібноглобулярний ріст у вигляді кульок розміром від менш ніж 0,1 до 0,3 см з ворсинками.

3. Скринінг джерел вуглецевого і азотного живлення дав можливість вибрати для штаму *T. zonatus* 5302 глюкозу, фруктозу, мальтозу, сахарозу, пептон, дигідрофосфат амонію як джерела вуглецю і азоту відповідно, що забезпечують найвищу концентрацію біомаси – від 4,2 до 6,3 г/дм<sup>3</sup> (при стаціонарному культивуванні), порівняно з рештою досліджених джерел вуглецю і азоту.

4. Показано вплив значення вихідного рН середовища на концентрацію біомаси *T. zonatus* 5302: при значенні вихідного рН середовища 5,5 і 6,0 концентрація біомаси *T. zonatus* 5302 була найбільшою і становила 6,5 г/дм<sup>3</sup>.

5. Серед досліджених джерел факторів росту культивування штаму *T. zonatus* 5302 на середовищі з пивним суслем або відваром дубової кори забезпечувало найбільше значення концентрації біомаси 6,8 г/дм<sup>3</sup> та економічного коефіцієнта росту 44 %.

6. Проведені дослідження стали вихідними для досліджень з підбору складу комплексного середовища для глибинного культивування *T. zonatus* 5302. Результати аналізу амінокислотного складу біомаси *T. zonatus* 5302, отриманої глибинним культивуванням на комплексному середовищі, показали підвищений, порівняно з вихідним середовищем, вміст тирозину і метіоніну в 3,0 і 4,1 разу відповідно.

Таким чином, аналіз амінокислотного складу біомаси *T. zonatus* 5302 дає змогу говорити про біологічну цінність цього гриба за вмістом амінокислот і необхідність більш детального вивчення його біохімічного складу з метою розробки технології функціонального харчового продукту.

## Список літератури

1. Гаврилова В.П., Шамолина И.И., Белова Н.В. Возможности нетрадиционного использования базидиомицетов в кожевенном и текстильном производстве // Биотехнология. – 2002. – № 5. – С. 74–79.
2. Леонтьевский А.А. Лигниназы базидиомицетов: Дисс. ... д-ра биол. наук. – Пушино, 2002. – 266 с.
3. Белова Н.В. Перспективы использования биологически активных соединений высших базидиомицетов в культуре // Микология и фитопатология. – 2004. – 38, № 2. – С. 1–5.
4. Биологические свойства лекарственных макромицетов в культуре. Т. 2 / Н.А. Бисько, В.Г. Бабицкая, А.С. Бухало и др.; под ред. чл.-корр. НАН Украины С.П. Вассера. – К.: Альтерпрес, 2012. – 459 с.
5. Ганбаров Х.Г. Эколого-физиологические особенности дереворазрушающих высших базидиальных грибов. – Баку: Элм, 1989. – 200 с.
6. Бисько Н.А., Бухало А.С., Вассер С.П. Высшие съедобные базидиомицеты в поверхностной и глубокой культуре. – К.: Наук. думка, 1983. – 312 с.

7. Elisashvili V. Submerged cultivation of medicinal mushrooms: bioprocesses and products (review) // *Int. J. Med. Mushr.* – 2012. – **14**, № 3. – P. 211–239.
8. Горшина Е.С. Глубинное культивирование грибов рода *Trametes* Fr. с целью получения биологически активной биомассы: Дисс. ... канд. биол. наук. – М., 2003. – 250 с.
9. *Каталог колекції культур шапинкових грибів ІБК* / Бухало А.С., Н.Ю. Митропольская, О.Б. Михайлова. – К.: Альтерпрес, 2011. – 100 с.
10. Клечак И.Р. Оптимизация режимов получения посевного материала и технологические требования к биореактору для производства кормового белкового продукта из виноградных выжимок: Автореф. дис. ... канд. техн. наук. – Ялта, 1991. – 27 с.
11. Антоненко Л.О. Біотехнологія отримання біомаси вищих базидіальних грибів роду *Coriolus*: Автореф. дис. ... канд. техн. наук. – К., 2013. – 22 с.

## References

1. V.P. Gavrilova *et al.*, "Possibilities of innovative usage of Basidiomycetes in leather and textile industries", *Biotechnologija*, no. 5, pp. 74–79, 2002 (in Russian).
2. A.A. Leontievski, "Ligninase Basidiomycetes", doctoral dissertation, Pushhino, 2002 (in Russian).
3. N.V. Belova, "Prospects for the use of biologically active compounds in the culture of higher Basidiomycetes", *Mikologija i Fitopatologija*, vol. 38, no. 2, pp. 1–5, 2004 (in Russian).
4. N.A. Bisko *et al.*, *Biological Properties of Nacromycetes in Culture*, vol. 2. Kyiv, Ukraine: Al'terpres, 2012, 459 p. (in Ukrainian).
5. H.G. Ganbarov, *Ecological and Physiological Characteristics of Higher Wood-Destroying Basidiomycetes*. Baku, Azerbaijan: Elm, 1989, 200 p. (in Azerbaijanian).
6. N.A. Bisko *et al.*, *Higher Edible Basidiomycetes in the Superficialis and Submerged Culture*. Kyiv, Ukraine: Naukova Dumka, 1983, 312 p. (in Russian).
7. Elisashvili V., "Submerged cultivation of medicinal mushrooms: bioprocesses and products (review)", *Int. J. Med. Mushr.*, vol. 14, no. 3, pp. 211–239, 2012.
8. E.S. Gorshina, "Deep cultivation of fungi of the genus *Trametes* Fr. to obtain a biologically active biomass", Ph.D dissertation, Moscow, 2003 (in Russian).
9. A.S. Bukhalo *et al.*, *Catalog of Cultures of Pileated Fungi Collection of IBC*. Kyiv, Ukraine: Alterpres, 2011, 100 p. (in Ukrainian).
10. I.R. Klechak, "Optimization of obtaining seed and technological requirements for the bioreactor for the production of protein feed product from grape marc", synopsis of Ph.D dissertation, Yalta, 1991 (in Russian).
11. L.O. Antonenko, "Biotechnology of biomass higher Basidiomycetes of the genus *Coriolus*", synopsis of Ph.D dissertation, Kyiv, 2013 (in Ukrainian).

Л.О. Тітова, І.Р. Клечак

## ОСОБЛИВОСТІ КУЛЬТИВУВАННЯ ВИЩОГО БАЗИДІАЛЬНОГО ГРИБА *TRAMETES ZONATUS* НА РІДКИХ СЕРЕДОВИЩАХ

**Проблематика.** Базидіальні гриби *T. zonatus* є продуцентами окиснювальних і целюлолітичних ферментів, а також полісахаридів з протипухлинною дією. Доцільність дослідження полягає в тому, що для створення біотехнології функціональної харчової біомаси на основі штамів із вітчизняних колекцій недостатньо вихідних даних: дані щодо умов культивування і складу середовищ, біохімічного складу біомаси *T. zonatus* уривчасті.

**Мета дослідження.** Провести скринінг штамів базидіальних грибів *T. zonatus* на рідких середовищах, встановити вплив складу середовища та значення вихідного рН середовища на концентрацію біомаси *T. zonatus* 5302, вивчити амінокислотний склад біомаси, отриманої при глибинному культивуванні *T. zonatus* 5302 на комплексному середовищі.

**Методика реалізації.** Об'єкти дослідження – тринадцять штамів базидіальних грибів *T. zonatus* ІБК. Методи глибинного і стаціонарного культивування стандартні, умови культивування підібрані для штамів. Кількість біомаси визначали ваговим методом, вміст сухих речовин у культуральній рідині – ареометричним методом. Джерело вуглецю і азоту додавали в середовище в кількості, еквімолярній відповідно 20 г/дм<sup>3</sup> глюкози в перерахунку на вуглець і 3 г/дм<sup>3</sup> NaNO<sub>3</sub> в перерахунку на азот. Амінокислотний склад білків після відповідної обробки досліджували за допомогою амінокислотного аналізатора Т-339 ("Mikrotechna", Чехія).

**Результати дослідження.** За результатами скринінгу виявлено штам з найкращими ростовими характеристиками *T. zonatus* 5302: концентрація біомаси – 4,5 г/дм<sup>3</sup>, продуктивність біосинтезу біомаси – 0,6 г/дм<sup>3</sup>·добу, економічний коефіцієнт росту – 47%. Вибрано джерело вуглецю, азоту, факторів росту, вихідне значення рН середовища для середовища культивування *T. zonatus* 5302.

**Висновки.** Біомаса *T. zonatus* 5302, отримана глибинним культивуванням на запропонованому комплексному середовищі, характеризується підвищеним вмістом тирозину і метіоніну. Показник біологічної цінності білка штаму *T. zonatus* 5302 становив 0,59, що близько до відповідних показників таких грибів, як *Pleurotus ostreatus* (0,52) і *Ganoderma lucidum* (0,48).

**Ключові слова:** базидіальні гриби; *Trametes zonatus*; скринінг; глибинне культивування; склад середовища; біомаса.

Л.А. Титова, И.Р. Клечак

#### ОСОБЕННОСТИ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ВЫСШИХ БАЗИДИАЛЬНЫХ ГРИБОВ *TRAMETES ZONATUS* НА ЖИДКИХ СРЕДАХ

**Проблематика.** Базидиальные грибы *T. zonatus* являются продуцентами окислительных и целлюлолитических ферментов, а также полисахаридов с противоопухолевым действием. Целесообразность исследования заключается в том, что для создания биотехнологии функциональной пищевой биомассы на основе штаммов из отечественных коллекций недостаточно исходных данных: мало данных по условиям культивирования и составам сред, биохимическому составу биомассы *T. zonatus*.

**Цель исследования.** Провести скрининг штаммов базидиальных грибов *T. zonatus* на жидких средах, установить влияние состава среды и значения исходного pH среды на концентрацию биомассы *T. zonatus* 5302, изучить аминокислотный состав биомассы, полученной при глубинном культивировании *T. zonatus* 5302 на комплексной среде.

**Методика реализации.** Объекты исследования – тринадцать штаммов базидиальных грибов *T. zonatus* ИБК. Методы глубинного и стационарного культивирования стандартные, условия культивирования подобраны для штаммов. Количество биомассы определяли весовым методом, содержание сухих веществ в культуральной жидкости – ареометрическим методом. Источник углерода и азота добавляли в среду в эквимолярном количестве, которое соответствует 20 г/дм<sup>3</sup> глюкозы в пересчете на углерод и 3 г/дм<sup>3</sup> NaNO<sub>3</sub> в пересчете на азот. Аминокислотный состав белков после соответствующей обработки исследовали с помощью аминокислотного анализатора Т-339 ("Mikrotechna", Чехия).

**Результаты исследования.** В результате скрининга обнаружен штамм с лучшими ростовыми характеристиками *T. zonatus* 5302: концентрация биомассы – 4,5 г/дм<sup>3</sup>, продуктивность биосинтеза биомассы – 0,6 г/дм<sup>3</sup>·сутки, экономический коэффициент роста – 47 %. Определены источник углерода, азота, факторов роста, исходное значение pH среды культивирования *T. zonatus* 5302.

**Выводы.** Биомасса *T. zonatus* 5302, полученная при глубинном культивировании на комплексной среде предложенного состава, характеризуется повышенным содержанием тирозина и метионина. Показатель биологической ценности белка штамма *T. zonatus* 5302 составлял 0,59, что сопоставимо с соответствующими показателями таких грибов, как *Pleurotus ostreatus* (0,52) и *Ganoderma lucidum* (0,48).

**Ключевые слова:** базидиальные грибы; *Trametes zonatus*; скрининг; глубинное культивирование; состав среды; биомасса.

Рекомендована Радою  
факультету біотехнології і біотехніки  
НТУУ "КПІ"

Надійшла до редакції  
3 лютого 2015 року