

УДК 581.192:582.287.37

Е. Ф. Соломко – доктор біологічних наук Інституту ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України, м. Київ;
О. В. Федотов – кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник, доцент Донецького національного університету;
О. В. Чайка – студент Донецького національного університету

Вплив хімічних речовин на інтенсивність перекисного окислення ліпідів грибів *Flammulina velutipes* (Curt. ex fr.) Sing. та *Lentinus edodes* (Berk.) Sing.

Роботу виконано на кафедрі фізіології рослин ДНУ

Вивчався вплив хімічних речовин на інтенсивність перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) штамів грибів *Flammulina velutipes* та *Lentinula edodes*. Інтенсивність ПОЛ визначали за допомогою тесту з тиобарбітуровою кислотою. Аналіз експериментального матеріалу показує, що під дією різних речовин змінюється вміст малонового діальдегіду (МДА) в досліджуваних зразках. Із плином часу, у більшості випадків, відбувається зменшення відмінності між контрольними і дослідними даними, що свідчить про нормалізацію стану ПОЛ.

Ключові слова: перекисне окиснення ліпідів, вплив хімічних речовин, малоновий діальдегід, базидіоміцети.

Соломко Е. Ф., Федотов О. В., Чайка А. В. Влияние химических веществ на интенсивность перекисного окисления липидов грибов *Flammulina velutipes* (Curt. ex fr.) Sing. and *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler. Изучали влияние химических веществ на интенсивность перекисного окисления липидов (ПОЛ) штаммов грибов *Flammulina velutipes* и *Lentinula edodes*. Интенсивность ПОЛ определяли при помощи теста с тиобартуровой кислотой. Анализ экспериментального материала показал, что под влиянием различных веществ изменялось содержание малонового диальдегида (МДА) в исследуемых образцах. Со временем, в большинстве случаев, происходит уменьшение отличий между контрольными и опытными данными, что свидетельствует о нормализации состояния ПОЛ.

Ключевые слова: перекисное окисление липидов, влияние химических веществ, малоновый диальдегид, базидиомицеты.

Solomko E. F., Fedotov O. V., Chaika A. V. Effect of Chemicals on the Intensity of Peroxide Lipid Oxidation Strains of Mushrooms *Flammulina velutipes* (Curt. ex fr.) Sing. and *Lentinula edodes* (Berk.) Pegler.

At given research was studied the effect of chemicals on Peroxide Lipid Oxidation (PLO) process strains of mushrooms *Flammulina velutipes* and *Lentinula edodes*. The intensity of PLO was determined by the test with thiobarbituric acid. The analysis of experimental material is showing that the effects of various substances varies the malonic dialdehyde (MDA) content in the samples. Over time, in most cases, there is a decrease differences between the control and experimental data, is showing the normalization of condition PLO.

Key words: Peroxide Lipid Oxidation, effect of chemicals, malonic dialdehyde, Basidiomycetes.

Постановка наукової проблеми та її значення. Установлено, що під час метаболічних процесів до п'яти відсотків загальної кількості кисню, який використовується організмом, піддається послідовному одновалентному відновленню з утворенням так званих вільнорадикальних сполук, що мають неспарений електрон. Радикальні ($\cdot\text{O}_2^-$; $\cdot\text{OH}$) та нерадикальні (H_2O_2) сполуки, що утворюються в процесі одновалентного відновлення, є реакційноздатними активованими формами кисню (АФК), які мають значно більшу хімічну активність порівняно з вихідною молекулою O_2 [6, 9, 10]. В онтогенезі з ними зв'язані регуляція активності ферментів, продукція біологічно активних речовин, регуляція проліферативних і трофічних процесів на тканинному і клітинному рівнях, реалізація діяльності контролюючих і захисних систем організму [2, 10]. Деструктивній дії вільних радикалів і пероксидних сполук перешкоджає складна багатокомпонентна антиоксидантна система захисту організму, завдяки чому токсична дія АФК зведена до мінімуму.

Зміна активності процесів перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) відбувається, як правило, при всіх варіантах реакції організму на різноманітні екстремальні дії та стани: гіпероксію, гіпоксію, гіпер-, гіпотермію, дію іонізуючої радіації, ультрафіолетове опромінювання, хімічне забруднення навколишнього середовища, процеси старіння та ін. Активація ПОЛ є неспецифічним компонентом

реакції організму на будь-які впливи, нетипові за силою і тривалістю. При цьому недостатність систем антиоксидантного захисту сприяє збільшенню ступеня вираженості цієї реакції [2, 9]. Підвищене утворення вільних радикалів в організмі та зв'язане з цим посилення процесів пероксидації ліпідів (яке іноді називають “кисневим стресом”) супроводжується рядом порушень у властивостях біологічних мембран і функціонуванні клітин. Кисневий стрес може проявлятися на рівні клітин, тканин та організму [2; 6; 9; 10].

Особливо важливе значення процеси ПОЛ відіграють у життєдіяльності дереворуйнівних базидіоміцетів, які використовують основні компоненти деревини як джерела живлення. Установлено, що процес розкладання лігніну, який каталізується лігнолітичними ферментами, має вільнорадикальний характер [3].

У грибах містяться численні органічні сполуки, що відрізняються високою біологічною активністю. До них належать антибіотики, токсини, стимулятори росту рослин, вітаміни, ферменти, інші фізіологічно активні речовини. Можливість використання цих організмів для створення профілактичних і лікарських препаратів стала реальною після численних фундаментальних досліджень процесів їх життєдіяльності: особливостей росту й розвитку, метаболічної і ферментативної активності та характеру і механізмів їх регуляції [1, 5].

Flammulina velutipes – опеньок зимовий – їстівний лікарський гриб, при культивуванні якого виявлені речовини з протипухлинною, імуномодельною, тромболітичною, антибактеріальною, антивірусною, антифунгальною, антиоксидантною та імуномодельною лікарською дією. *Lentinus edodes* – сітаке – один із найбільш популярних їстівних ксилотрофів у східних країнах. Гриб виявляє загальнозмцнюючу, антивірусну, антиоксидантну, протипухлинну, гіпоглікемічну лікарську дію, підвищує імунітет [1].

Формулювання мети статті. Мета роботи – вивчення впливу хімічних речовин на інтенсивність перекисного окислення ліпідів грибів *Flammulina velutipes* та *Lentinus edodes*.

Матеріали й методи. Об'єкти досліджень – штамп F-06 гриба *Flammulina velutipes* і штамп 523 гриба *Lentinus edodes*. Штами культивували при температурі 27,5 °С у колбах Ерленмейера ємністю 250 мл на стерильному глюкозо-пептонному живильному середовищі об'ємом 50 мл (рН₀ = 6,25), такого складу, г/л: глюкоза – 10,0; пептон – 3,0; КН₂РO₄ – 0,6; К₂НРO₄ – 0,4; MgSO₄ · 7H₂O – 0,5; CaCl₂ – 0,05; ZnSO₄ · 7H₂O – 0,001; дистильована вода – до 1л [4, 8]. На 10-ту добу культивування в дослідні колби додавали стерильні водні розчини відповідних хімічних речовин, а в контрольні – стерильну дистильовану воду. Інтенсивність перекисного окиснення ліпідів у культуральному фільтраті (КФ) і міцеліальному гомогенаті (МГ) вимірювали через 24 і 48 годин експозиції речовин за допомогою тесту з тіобарбітуровою кислотою (ТБК). Метод заснований на визначенні кількості забарвленого продукту, який має максимум поглинання в червоному видимому спектрі при довжині хвилі 532 нм. Забарвлений продукт утворюється в результаті взаємодії двох молекул ТБК з одною молекулою малонового діальдегіду (МДА) – одного із вторинних продуктів ПОЛ. Установлено, що реакцію з ТБК дає не тільки МДА, а й багато інших сполук, які утворюються під час ПОЛ. Тому разом їх називають ТБК-активні продукти (ТБК-АП) [5]. Кількість МДА у тканинах виражали в наномолях МДА (А) на 1 г маси досліджуваного матеріалу. Розрахунки вели за формулою [8]:

$$A = \frac{D_{532} \cdot 10 \cdot V \cdot a}{P \cdot e},$$

де D_{532} – показники оптичної густини при 532 нм; V – об'єм реакційної суміші (4 мл); a – відношення загального об'єму витяжки до об'єму проби, яку взято для визначення МДА; e – молярний коефіцієнт екстинції, складає 155000 л см⁻¹ · моль⁻¹; P – наважка матеріалу, г.

Отримані експериментальні дані обробляли з використанням програм для проведення статистичної обробки результатів біологічних експериментів [7].

Виклад основного матеріалу й обґрунтування отриманих результатів дослідження. Зважаючи, що такі речовини, як танін і галола кислота, містяться в деревині, а перекис водню утворюється під час метаболізму, використовували ці речовини з метою вивчення їх впливу на інтенсивність перекисного окислення ліпідів дослідних штамів ксилотрофів.

Вплив хімічних речовин залежно від часу їх експозиції на вміст продуктів ПОЛ у міцелії та КФ штаму F-06 *Flammulina velutipes* і штаму 523 *Lentinus edodes* представлені в табл. 1.

Аналіз даних табл. 1 засвідчує, що вміст продуктів перекисного окиснення ліпідів у міцелії контрольних зразків штаму 523 *Lentinus edodes* перебуває на більш високому рівні, ніж у штаму F-06 *Flammulina velutipes*.

При додаванні в живильне середовище таніну в міцелії обох штамів відмічається схожа динаміка процесів ПОЛ: через 24 години експозиції відбувається істотне зниження вмісту ТБК-АП відносно контролю, а через 48 годин – підвищення їхнього вмісту, яке контрастує зі зниженням інтенсивності ПОЛ у контрольних зразках, що відображено у відсотках впливу цієї речовини.

Під впливом галової кислоти через 24 години в міцелії штамів також відзначається зміна інтенсивності ПОЛ: у штаму F-06 спостерігається підвищення вмісту ТБК-АП, а у штаму 523 – його зниження. Але на момент другого аналізу, через 24 години після першого, різниця між показниками дослідів та контролю зменшується, що свідчить про початок стабілізації процесів ПОЛ після внесення кислоти.

Таблиця 1

Вплив хімічних речовин на інтенсивність перекисного окиснення ліпідів грибів *Flammulina velutipes* (Curt. ex Fr.) sing. та *Lentinus edodes* (Berk.) Sing.

Хімічна речовина		Танін		Галова кислота		Перекис водню		Контроль	
Концентрація, %		0,1		0,1		0,01		0	
Експозиція, год		24	48	24	48	24	48	24	48
Штам F-06									
МГ	Вміст ТБК-АП, нмоль МДА/ мл	1,2±0,01	2,9±0,02	2,9±0,03	2,0±0,01	3,8±0,02	1,9±0,01	2,2±0,01	1,8±0,01
	Вплив, %	-45	+61	+32	+11	+73	+6	0	0
КФ	Вміст ТБК-АП, нмоль МДА/ мл	0,7±0,01	0,8±0,01	0,7±0,01	0,6±0,01	1,4±0,01	1,2±0,01	0,8±0,01	0,9±0,01
	Вплив, %	-13	0	-13	-33	+75	+33	0	0
Штам 523									
МГ	Вміст ТБК-АП, нмоль МДА/ мл	4,7±0,03	6,4±0,03	3,0±0,02	2,8±0,02	3,6±0,02	3,1±0,02	5,9±0,03	5,0±0,03
	Вплив, %	-20	+28	-49	-44	-39	-38	0	0
КФ	Вміст ТБК-АП, нмоль МДА/ мл	0,6±0,01	1,0±0,01	0,8±0,01	0,8±0,01	1,8±0,01	2,0±0,01	0,7±0,01	1,1±0,01
	Вплив, %	-14	-9	+14	-27	+157	+82	0	0

Характер впливу перекису водню схожий на такий галової кислоти, але у штаму F-06 стабілізація показників ПОЛ відбувається значно швидше, ніж у штаму 523. Незважаючи на те, що додавання перекису водню викликає через 24 години значно більше відхилення вмісту ТБК-АП від контролю у *Flammulina velutipes*, ніж у *Lentinus edodes*, уже через 48 годин у першого штаму показники повністю нормалізуються і дорівнюють контролю.

Що стосується вмісту продуктів перекисного окиснення в культуральному фільтраті, то в більшості випадків він перебуває на рівні контрольних зразків, але спостерігаються два виключення – зниження на третину, відносно контролю, концентрації ТБК-АП в КФ обох штамів через 48 годин після додавання галової кислоти. Крім того, зафіксоване значне підвищення вмісту ТБК-АП в КФ обох штамів під впливом перекису водню, що, як і в міцелії, має тенденцію до зменшення різниці між дослідом і контролем із плином часу.

Висновки та перспективи подальших досліджень. Результати вивчення впливу хімічних речовин на інтенсивність перекисного окиснення ліпідів грибів *Flammulina velutipes* та *Lentinus edodes* дають змогу зробити певні висновки. Інтенсивність ПОЛ штаму 523 *Lentinus edodes* перебуває на більш високому рівні, ніж штаму F-06 *Flammulina velutipes*. Танін на 24-ту годину експозиції викликає зниження вмісту ТБК-АП обох штамів, а на 48-му годину – різке зростання рівня ПОЛ для штаму F-06 і в 2 рази менш інтенсивне – для штаму 523. Галова кислота веде до збільшення інтенсивності процесів ПОЛ штаму F-06, що особливо відчутно на 24-ту годину експозиції цієї речовини. Для штаму 523 характерне гальмування процесів ПОЛ у всіх варіантах дослідів. Перекис водню викликає у штаму F-06 більш відчутне підвищення ПОЛ при експозиції 24 години і в КФ, і в міцелії. Для штаму 523 за наявності перекису водню спостерігали зниження вмісту ТБК-АП у міцелії і значне їх підвищення в КФ.

Література

1. Бухало А. С. Базидіальні макроміцети з лікарськими властивостями / А. С. Бухало, Е. Ф. Соломко, Н. Ю. Митропольська // Укр. ботан. журн. – 1996. – Т. 53, № 3. – С. 192–201.
2. Владимиров Ю. А. Перекисное окисление липидов в биологических мембранах / Ю. А. Владимиров, А. И. Арчаков. – М. : Наука, 1972. – 252 с.
3. Головлева Л. А. Разложение лигнина грибными культурами / Л. А. Головлева, Х. Г. Ганбаров, Г. К. Скрябин // Микробиология. – 1982. – Т. 51, № 4. – С. 543–547.
4. Дудка И. А. Методы экспериментальной микологии : справочник / И. А. Дудка, С. П. Вассер, И. А. Элланская. – К. : Наук. думка, 1982. – 550 с.
5. Капич А. Н. Антиоксидантные свойства дереворазрушающих базидиомицетов / А. Н. Капич, Л. Н. Шишкина // Микол. и фитопатол. – 1992. – Т. 26, № 6. – С. 486–492.
6. Корж Е. В. Перекисное окисление липидов : причина или следствие / Е. В. Корж, В. В. Мухин, Е. Е. Латышев, Е. А. Асланова // Вестн. неотлож. и восстановлив. медицины, 2003. – Т. 4, № 2. – С. 347–350.
7. Приседський Ю. Г. Статистична обробка результатів біологічних експериментів / Приседський Ю. Г. – Донецьк : Кассіопея, 1999. – 210 с.
8. Федотов О. В. Ріст та інтенсивність перекисного окиснення ліпідів культур сїтаке *Lentinus edodes* (Berk.) Sing. / О. В. Федотов, О. В. Чайка // Інтродукція та захист рослин у ботанічних садах та дендропарках : матеріали Міжнар. наук. конф. (м. Донецьк, 5–7 верес. 2006 р.). – Донецьк : ООО “Юго-Восток, Лтд”, 2006. – С. 282–285.
9. Frei B. Natural antioxidants in human health and disease / Frei B. // Academic Press, San Diego. – 1994. – P. 387–409.
10. Halliwell B. Lipid peroxidation, oxygen radicals, cell damage, and antioxidant therapy / B. Halliwell, J. M. C. Gutteridge // Lancet. – 1984. – № 3. – P. 1396–1398.

Статтю подано до редколегії
22.06.2010 р.