

УДК 582.28

DOI: 10.15587/2519-8025.2019.179939

ЗАЛЕЖНІСТЬ СИНТЕЗУ МЕЛАНІНУ ЧОРНИМИ ДРІЖДЖАМИ *PSEUDONADSONIELLA BRUNNEA* ВІД КІЛЬКОСТІ ДЖЕРЕЛА ВУГЛЕЦЮ В КУЛЬТУРАЛЬНОМУ СЕРЕДОВИЩІ

Т. О. Кондратюк, Т. В. Берегова, Т. В. Акуленко, В. В. Верещака

Метою роботи було визначення впливу вмісту джерела вуглецю в культуральному середовищі на синтез меланіну чорними дріжджами *Pseudonadsoniella brunnea* 470 FCKU.

Матеріали та методи: культивування штаму *Pseudonadsoniella brunnea* здійснювали на рідкому поживному середовищі, основною складовою якого був ячмінно-солодовий екстракт. Концентрацію джерела вуглецю (вуглеводів) в розчині ячмінно-солодового екстракту встановлювали на рівні 2,0; 4,0; 6,0 та 8,0 % за ареометром-цукрометром АСТ-2. В ці середовища додавали 0,05 % L-тирозину та 1 % пептону ферментативного. Регулювання кислотності середовищ на рівні 1-1,5 здійснювали за допомогою сірчаної кислоти.

Результати дослідження. В результаті проведених досліджень встановлено, що кількість синтезованого меланіну штамом чорних дріжджоподібних грибів *Pseudonadsoniella brunnea* 470 FCKU залежить від кількості джерела вуглецю в культуральному середовищі. За умов зменшення в культуральному середовищі вмісту редукованих цукрів в 2 та 4 рази кількість меланіну, синтезованого штамом *Pseudonadsoniella brunnea*, збільшувалась в 5,8 та 5,1 рази, відповідно.

Висновки. Культивування штаму *Pseudonadsoniella brunnea* 470 FCKU за низьких показників рН та вмісту джерела вуглецю призводить до реалізації його захисної функції у вигляді виділення меланіну у культуральне середовище. Найбільшу кількість меланіну (394,03 мг/л) штаму *Pseudonadsoniella brunnea* синтезував при внесенні в культуральне середовище джерела вуглецю в концентрації 4,0 % за ареометром, що відповідає вмісту 2,4-2,52 % редуруючих цукрів (переважно мальтози)

Ключові слова: чорні дріжджоподібні гриби, синтез меланіну, оптимальні умови культивування

Copyright © 2019, Т. Kondratiuk, Т. Beregova, Т. Akulenko, V. Vereschaka.

This is an open access article under the CC BY license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0>).

1. Вступ

Посилений синтез різноманітних біологічно активних сполук (БАС) є одним із виявів активної стратегії адаптації мікроорганізмів до впливу жорстких фізико-хімічних факторів довкілля (наприклад, Антарктики) [1]. БАС мікроорганізмів-екстремофілів, синтез яких стимулюється дією різноманітних чинників, широко застосовуються в медицині, біотехнологічних виробництвах, промисловості, сільському господарстві тощо [2, 3]. Здатність до синтезу та накопичення різноманітних пігментів мікроорганізмами, зокрема меланіну, постає окремим аспектом використання таких продуцентів БАС в різних галузях людської діяльності. Меланіни – група пігментів, притаманних як про-, так і еукаріотам. Вони характеризуються широким спектром біологічної дії: антиоксидантної, протизапальної, антистресової, імуномодулюючої, антипухлинної, антимікробної, антифунгальної, противірусної, дерматотропної, цито-, фото- і радіопротекторної. Також вони можуть використовуватися як сорбенти низки радіонуклідів та важких металів [4, 5]. Отже, меланіни є перспективними для широкого застосування в фармацевтичній промисловості, а питання, пов'язані з проведенням досліджень, спрямованих на визначення оптимальних умов, що забезпечують інтенсифікацію синтезу меланіну мікроорганізмами, є актуальними.

2. Літературний огляд

БАС мікроорганізмів, ізольованих із місцевостей, що характеризуються впливом екстремальних факторів довкілля, є предметом досліджень науковців в усьому світі [6]. Так, антарктичний штаму дріжджоподібних грибів відділу Basidiomycota *Sporobolomyces salmonicolor* AL1 визнаний продуцентом таких важливих БАС, як екзополісахариди [7], ергостерол, β-каротин, коензим Q₁₀ та ін. Було оцінено антиоксидантну активність цих БАС та встановлено, що біологічно активні метаболіти *Sporobolomyces salmonicolor* в поєднанні з екзоглюкоманнаном як емульгатором, можуть бути використані для створення модельних емульсійних систем, що характеризуються великою стійкістю [8]. В дослідженнях болгарських науковців Gesheva V. та Vasileva-Tonkova E. [9] продемонстровано потенціал мікробних ізолятів із антарктичних ґрунтів для отримання широкого спектру ферментів, важливих для біотехнології та медицини. За результатами досліджень мікроскопічних грибів, які розвиваються за умов дії екстремальних факторів Антарктики, встановлено, що вони є потужними джерелами метаболітів із протимікробною, антифунгальною активністю та можуть бути об'єктами фармацевтичної індустрії. Так, Henriquez M. із співавторами [10] з'ясовано, що метаболіти міцеліальних грибів Антарктики здатні інгібувати ріст

таких патогенних мікроорганізмів, як *Staphylococcus aureus*. Шведськими дослідниками отримано новий антифунгальний метаболіт амфотеріцин, продуцентом якого є міцеліальний гриб *Penicillium nalgiovense* Лаха, ізолюваний з антарктичних зразків. Охарактеризовано антифунгальну активність амфотеріцину щодо дріжджоподібних грибів *Candida albicans* [11]. Встановлено також, що 12 видів грибів роду *Penicillium* із екологічних ніш Арктики та Антарктики, є продуцентами БАС різних структурних типів (зокрема, ергоалкалоїдів), яким притаманні антибактеріальні, антифунгальні, протипухлинні та ін. властивості [12]. Грунтовні дослідження антарктичних дріжджів *Candida antarctica* дозволили охарактеризувати їх, як одних із найкорисніших мікроорганізмів для ефективного методу синтезу індолізіну, похідні якого застосовуються як протиракові, протитуберкульозні, знеболюючі, антиоксидантні засоби тощо [13]. В зв'язку із збільшенням інтересу промисловості до більш безпечних, екологічно чистих продуктів використання мікроорганізмів для виробництва пігментів є сьогодні важливим напрямком досліджень [14, 15]. Використання мікроорганізмів для отримання пігментів в промисловому масштабі має низку переваг над застосуванням рослин чи тварин та може забезпечити економічно вигідний біотехнологічний процес, оскільки синтез пігментів мікроорганізмами може здійснюватися із використанням дешевих культуральних середовищ, не залежить від сезонних обмежень тощо. Мікроорганізми можуть продукувати пігменти у необхідній (високій) кількості, в залежності від умов культивування [16, 17]. Цінним джерелом пігментів, зокрема меланіну, є мікроскопічні гриби [5, 18]. Серед них особливе місце посідають чорні дріжджоподібні гриби, перспективні для використання в медичній галузі [19, 20]. Дані сучасних досліджень розширюють уявлення щодо багатofункціональності меланінів, які синтезують екстремофільні мікроскопічні гриби. Грибні меланіни посідають важливе місце в ефективних стратегіях створення нового класу біологічно активних високотехнологічних матеріалів [5]. Аналіз літературних даних свідчить, що не існує стандартних методів культивування мікроскопічних грибів, які синтезують меланін. На синтез цього пігменту грибами впливають, як таксономічна приналежність продуцента, так і склад поживних середовищ та умови культивування. Головним спрямуванням досліджень з визначення оптимальних параметрів для збільшення виходу меланіну є подальше великомасштабне виробництво даного пігменту для застосування в медицині, різних біотехнологічних галузях тощо [21, 22].

Об'єктом наших багаторічних досліджень є чорні дріжджоподібні гриби *Pseudonadsoniella brunnea* (депозитовані нами у всесвітньому Генетичному банку під № КТ456204) [23], які синтезують і екскретують меланін у культуральне середовище. Показано, що меланін, продуцентом якого є штам *Pseudonadsoniella brunnea*, проявляє антиоксидантну, антифітопатогенну [24], дерматотропну, ранозагоювальну [25, 26], стрес-адаптогенну дію [27], що, відповідно, робить його перспективним для застосування в фармацевтичній промисловості.

3. Мета і задачі досліджень

Метою даної роботи було визначення впливу вмісту джерела вуглецю в культуральному середовищі на синтез меланіну чорними дріжджами *Pseudonadsoniella brunnea* 470 FCKU.

Для досягнення мети були поставлені такі задачі:

1. Оцінити залежність кількості меланіну, синтезованого штамом *Pseudonadsoniella brunnea* від вмісту джерела вуглецю (редуючих цукрів) в поживному середовищі.

2. Охарактеризувати відмінності застосованих в даній роботі етапів отримання меланіну від таких, що застосовуються іншими дослідниками.

4. Матеріали та методи дослідження

Основні етапи виділення меланіну з культурального середовища *Ps. brunnea* були підпорядковані Регламенту «Отримання поліфенолкарбонового комплексу з антарктичних чорних дріжджоподібних грибів *Pseudonadsoniella brunnea* «Меланін» на основі ТУ У 15.9-30034243-004:2005 із змінами назви штаму, доповненнями та змінами в пп. 2.2.1, 2.2.3, 5.9.3», розробленого нами в 2017 р. З метою отримання меланіну культивування штаму чорних антарктичних дріжджів *Pseudonadsoniella brunnea* 470 FCKU (Basidiomycota, Agaricomycotina, Agaricomycetes, Polyporales, Meripilaceae) здійснювали на рідкому поживному середовищі, основною складовою якого був ячмінно-солодовий екстракт (ЯСЕ №3 виробництва "Крохмалепродукти України"). Концентрацію джерела вуглецю (вуглеводів) в розчині ячмінно-солодового екстракту встановлювали на рівні 2,0; 4,0; 6,0 та 8,0 % за ареометром-цукрометром АСТ-2. В ці середовища додавали тирозин (0,05 %) та пептон ферментативний (1 %). Відповідно зазначеному Регламенту кислотність (рН) середовища в даній серії експериментів встановлювали на рівні 1–1,5. Для регулювання кислотності середовищ використовували сірчану кислоту. Культивування *Pseudonadsoniella brunnea* здійснювали глибинним способом безперервно за температури $+24\pm 2^\circ\text{C}$ з періодичним відбором 1/3 культурального середовища через кожні 14 діб культивування. Після відбору 1/3 культурального середовища для здійснення подальших етапів отримання з нього меланіну, в ємкості для культивування *Pseudonadsoniella brunnea* додавали відповідне свіже живильне середовище у тому самому об'ємі.

Отримання меланіну із культурального середовища *Pseudonadsoniella brunnea* здійснювали в кількості послідовних етапів. На першому етапі для виділення меланіну кислотність культурального середовища підвищували гідроксидом натрію до 3–3,5. Після відстоювання сформований та ущільнений осад, який містив меланін та практично усю біомасу *Pseudonadsoniella brunnea*, заливали розчином гідроксиду натрію з рН 10–11 у співвідношенні 1:5 для здійснення, зокрема, етапу лужного гідролізу біомаси. На наступному етапі отримання меланіну надосадову рідину, яка утворилась після відстоювання, підкислювали соляною кислотою до рН 1–2 для осаджування меланіну. На подальших етапах роботи сформований та ущільнений після відстоювання осад, який містив

меланін, двічі промивали теплою (30–35 °С) водою у співвідношенні 1:10. Після відстоювання осад з вже очищеного меланіну розміщували у фарфорові чашки і висушували за температури 27–30 °С у термошафі Venticell. Отриманий меланін зважували.

Статистичну обробку результатів проводили за загальноприйнятими методами варіаційної статистики. Отримані результати перевіряли на нормальність за допомогою W теста Шапіро-Уїлка. Так як одержані результати виявились нормально розподіленими, відповідні розрахунки проводили за допомогою Аноу-аналізу для незалежних вибірок, рівень значущості $p < 0,05$. Отримані дані представлені у вигляді середнього значення (M) і стандартного відхилення (SD).

5. Результати дослідження

Згідно відповідних публікацій та ТУУ 15.8–32671885-001:2011 [28, 29] солодовий екстракт, який використано нами в проведених дослідженнях, є субстанцією, яка містить широкий набір важливих інгредієнтів, необхідних для культивування дріжджопо-

дібних та міцеліальних грибів. Це білки, незамінні амінокислоти, вуглеводи (декстрини, сахароза, мальтоза, глюкоза, фруктоза), мінеральні речовини, вітаміни тощо [30]. Для культивування штаму чорних дріжджоподібних грибів *Pseudonadsoniella brunnea* 470 FCKU з метою отримання меланіну найважливішим є вміст такого джерела вуглецю в культуральному середовищі, як редуруючі цукри (РЦ) – мальтоза, глюкоза, фруктоза. Відповідно до даних літератури приблизний відсоток РЦ (переважно мальтози) в екстракті солоду становить 60–63 % [31]. Отже, з урахуванням цього вміст РЦ в культуральному середовищі досліджених нами варіантів експерименту складав 1,2–1,26; 2,4–2,52; 3,6–3,78 та 4,8–5,04 %, що відповідає концентрації вуглеводів 2,0; 4,0; 6,0 та 8,0 % за ареометром-цукрометром, відповідно. В результаті проведених досліджень нами встановлено, що кількість синтезованого меланіну штамом чорних дріжджоподібних грибів *Pseudonadsoniella brunnea* 470 FCKU залежить від кількості джерела вуглецю в культуральному середовищі (рис. 1).

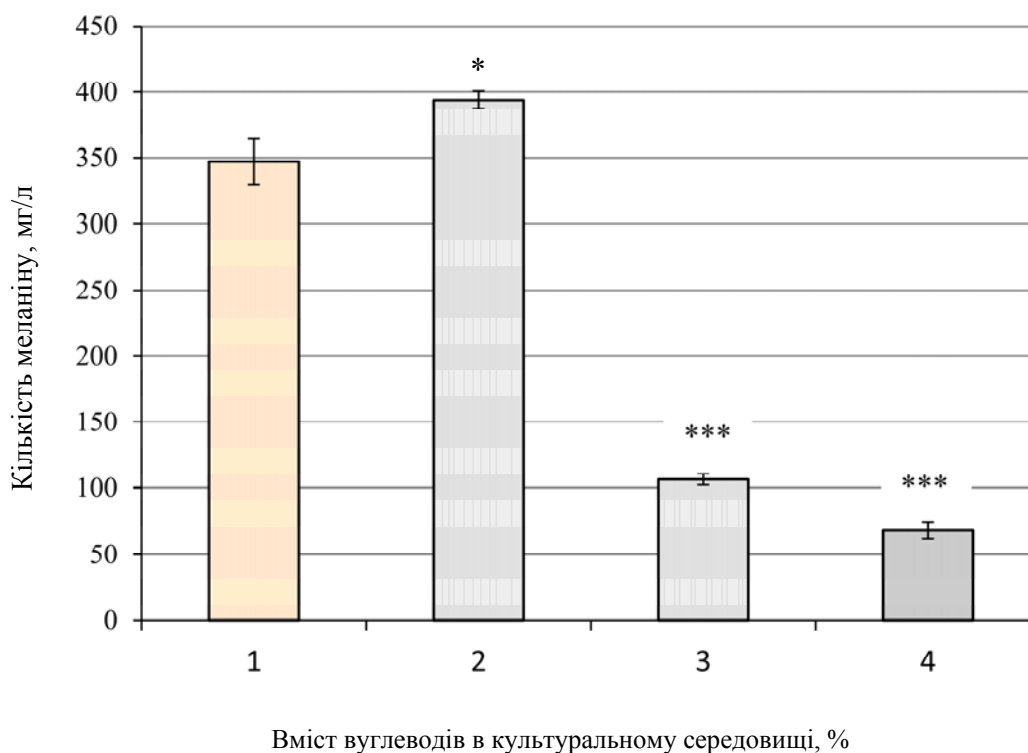


Рис. 1. Залежність кількості меланіну від вмісту джерела вуглецю (вуглеводів) в культуральному середовищі *Pseudonadsoniella brunnea* 470 FCKU. Вміст вуглеводів в розчині ячмінно-солодового екстракту: 1–2,0 %; 2–4,0 %; 3–6,0 %; 4–8,0 % за ареометром-цукрометром, M±SD:

* – $p < 0,05$, *** – $p < 0,001$ у порівнянні з кількістю синтезованого меланіну в культуральному середовищі *Pseudonadsoniella brunnea* 470 FCKU з 2 %-им вмістом вуглеводів в розчині ячмінно-солодового екстракту

Найбільшу кількість меланіну (394,03 мг/л) отримано за умов культивування штаму *Pseudonadsoniella brunnea* в живильному середовищі із вмістом 4,0 % вуглеводів за ареометром, що відповідає вмісту 2,4–2,52 % РЦ. За умов зменшення в культуральному середовищі вмісту РЦ в 2 та 4 рази кількість синтезованого штамом *Pseudonadsoniella brunnea* меланіну збільшувалась в 5,8 та 5,1 рази, відповідно. Так, при внесенні в середовище 4,8–5,04 % РЦ (8 % вуглеводів за ареометром) кількість синтезованого меланіну

складала 68,2±6,46 мг/л на відміну від 347,13±17,22 та 394,03±6,61 мг/л меланіну за умов внесення в середовище 1,2–1,26 та 2,4–2,52 % РЦ (2,0 та 4,0 % вуглеводів за ареометром, відповідно).

6. Обговорення результатів дослідження

Принципова відмінність досліджуваного нами штаму чорних антарктичних дріжджів *Pseudonadsoniella brunnea* 470 FCKU від інших відомих продуцентів меланіну – це виділення (екскреція) пігменту в

культуральне середовище. Проаналізовані нами дані літератури свідчать, що отримання меланіну іншими дослідниками переважно спрямоване на вилучення цього біополімеру із біомаси клітин мікроорганізмів. Однак накопичення меланіну переважно в клітинах мікроорганізмів ускладнює процес його подальшого отримання, оскільки виділення меланіну, що накопичується в клітині, супроводжується застосуванням певних необхідних етапів (зміна тиску, високі температурні діапазони, кількарізкові зміни жорсткого лужнокислотного балансу, застосування етилового спирту, атмосфери азоту, механічні втручання тощо), які можуть негативно впливати на його структуру і, відповідно, властивості [18]. Так, дані літератури свідчать, що отримання меланіну може здійснюватись із залученням мутантного штаму антарктичних чорних дріжджів *Nadsoniella nigra* var. *heuselica* Б-3, який було отримано в результаті селекції та відбору [32]. Із використанням вказаних чорних дріжджів меланін отримують як із біомаси дріжджів (внутрішньоклітинний меланін), так і з культуральної рідини (позаклітинний меланін). Авторами вказаних публікацій застосовуються рідкі поживні середовища, основною складовою яких є мінеральні солі. Концентрація джерела вуглецю (глюкози) коливається від 1,5 до 3 %, культивування здійснюється за рН середовища 3–5,5. Звертає на себе увагу той факт, що для виділення меланіну із біомаси вказаних чорних дріжджів автори застосовують процес автоклавування при 0,5 атм з 0,5 н. NaOH впродовж 1–3 години. Окрім цього на кількох етапах отримання меланіну вказаними авторами застосовуються також високі показники температури та тиску (температура 60–80 °C та температура кипіння в умовах надлишкового тиску 1 атм.) [32], що, з урахуванням фізико-хімічних властивостей меланіну як біополімеру, може призвести до суттєвих змін в його структурі та властивостей. Методичні підходи, що застосовуються нами для отримання меланіну з культурального середовища *Pseudonadsoniella brunnea*, виключають використання

високих температур, тиску та інших зазначених вище процесів, що унеможливило б негативний вплив на структуру меланіну, значно спрощує і полегшує процес виділення цього біополімеру та дозволяє в результаті отримати високоякісний продукт, який в подальшому може широко використовуватися в фармацевтичній галузі.

Обмеження дослідження. В подальших дослідженнях доцільно встановити, яку кількість біомаси накопичує штам *Pseudonadsoniella brunnea* в умовах, наближених до екстремальних та сприятливих для виділення ним меланіну в культуральне середовище. Потребує окремих досліджень питання оцінки кількості внутрішньоклітинного меланіну, який накопичується штамом *Pseudonadsoniella brunnea*.

Перспективи подальших досліджень. Проведення подальших досліджень в напрямку визначення умов, оптимальних для синтезу меланіну штамом чорних дріжджоподібних грибів *Pseudonadsoniella brunnea* 470 FCKU, є актуальним з огляду на реальні перспективи застосування цього біополімеру в медицині та у фармацевтичній галузі.

7. Висновки

Культивування штаму *Pseudonadsoniella brunnea* 470 FCKU за низьких показників рН та вмісту джерела вуглецю в живильному середовищі призводить до реалізації його захисної функції у вигляді виділення меланіну в культуральне середовище.

Кількість синтезованого меланіну штамом чорних дріжджоподібних грибів *Pseudonadsoniella brunnea* 470 FCKU залежить від кількості джерела вуглецю в живильному середовищі для культивування. Найбільшу кількість меланіну (394,03 мг/л) штам *Pseudonadsoniella brunnea* синтезував при внесенні в культуральне середовище джерела вуглецю в концентрації 4,0 % за ареометром, що відповідає вмісту 2,4–2,52 % редукуючих цукрів (переважно мальтози).

Література

1. Gonçalves, V. N., Vitoreli, G. A., de Menezes, G. C. A., Mendes, C. R. B., Secchi, E. R., Rosa, C. A., Rosa, L. H. (2017). Taxonomy, phylogeny and ecology of cultivable fungi present in seawater gradients across the Northern Antarctica Peninsula. *Extremophiles*, 21 (6), 1005–1015. doi: <https://doi.org/10.1007/s00792-017-0959-6>
2. Deming, J. W. (2009). Extremophiles: Cold Environments. *Encyclopedia of Microbiology*, 147–158. doi: <https://doi.org/10.1016/b978-012373944-5.00280-7>
3. Margesin, R., Feller, G. (2010). Biotechnological applications of psychrophiles. *Environmental Technology*, 31 (8-9), 835–844. doi: <https://doi.org/10.1080/09593331003663328>
4. Blumenberg, M. (Ed.) (2017). Melanin. *IntechOpen*. doi: <https://doi.org/10.5772/63257>
5. Belozerskaya, T. A., Gessler, N. N., Aver'yanov, A. A. (2017). Melanin Pigments of Fungi. *Fungal Metabolites*, 263–291. doi: https://doi.org/10.1007/978-3-319-25001-4_29
6. Anitori, R. P. (Ed.) (2012). *Extremophiles: Microbiology and Biotechnology*. Caister Academic Press, 300.
7. Poli, A., Anzelmo, G., Tommonaro, G., Pavlova, K., Casaburi, A., Nicolaus, B. (2010). Production and chemical characterization of an exopolysaccharide synthesized by psychrophilic yeast strain *Sporobolomyces salmonicolor* AL1 isolated from Livingston Island, Antarctica. *Folia Microbiologica*, 55 (6), 576–581. doi: <https://doi.org/10.1007/s12223-010-0092-8>
8. Dimitrova, S., Pavlova, K., Lukanov, L., Korotkova, E., Petrova, E., Zagorchev, P., Kuncheva, M. (2012). Production of Metabolites with Antioxidant and Emulsifying Properties by Antarctic Strain *Sporobolomyces salmonicolor* AL1. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 169 (1), 301–311. doi: <https://doi.org/10.1007/s12010-012-9983-2>
9. Gesheva, V., Vasileva-Tonkova, E. (2012). Production of enzymes and antimicrobial compounds by halophilic Antarctic *Nocardioides* sp. grown on different carbon sources. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 28 (5), 2069–2076. doi: <https://doi.org/10.1007/s11274-012-1009-2>
10. Henriquez, M., Chaves, R., Vaga, I. (2013). Antarctic fungi: Sources of new chemical substances with antibacterial properties. *Chilean Antarctic Bulletin*, 13 (1-2), 12.
11. Svahn, K. S., Chryssanthou, E., Olsen, B., Bohlin, L., Göransson, U. (2015). *Penicillium nalgiovense* Laxa isolated from Antarctica is a new source of the antifungal metabolite amphotericin B. *Fungal Biology and Biotechnology*, 2 (1). doi: <https://doi.org/10.1186/s40694-014-0011-x>

12. Антипова, Т. В. (2009). Штаммы-реликты грибов рода *Penicillium* как продуценты вторичных метаболитов. Пушино, 22.
13. Dinica, R., Furdui, B., Ghinea, I., Bahrim, G., Bonte, S., Demeynynck, M. (2013). Novel One-Pot Green Synthesis of Indolizines Biocatalysed by *Candida antarctica* Lipases. *Marine Drugs*, 11 (12), 431–439. doi: <https://doi.org/10.3390/md11020431>
14. Kumar, A., Vishwakarma, H. S., Singh, J., Dwivedi, S., Kumar, M. (2015). Microbial pigments: Production and their applications in various industries. *International Journal of Pharmaceutical, Chemical and Biological Sciences*, 5 (1), 203–212.
15. Lopes, F. C., Tichota, D. M., Pereira, J. Q., Segalin, J., de Oliveira Rios, A., Brandelli, A. (2013). Pigment Production by Filamentous Fungi on Agro-Industrial Byproducts: an Eco-Friendly Alternative. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 171 (3), 616–625. doi: <https://doi.org/10.1007/s12010-013-0392-y>
16. Marova, I., Carnecka, M., Halienova, A., Breierova, E., Koci, R. (2010). Production of Carotenoid/Ergosterol-Supplemented Biomass by Red Yeast *Rhodotorula glutinis* Grown Under External Stress. *Food Technology and Biotechnology*, 48, 56–61.
17. Yurkov, A. M., Vustin, M. M., Tyaglov, B. V., Maksimova, I. A., Sineokiy, S. P. (2008). Pigmented basidiomycetous yeasts are a promising source of carotenoids and ubiquinone Q10. *Microbiology*, 77 (1), 1–6. doi: <https://doi.org/10.1134/s0026261708010013>
18. Nosanchuk, J. D., Stark, R. E., Casadevall, A. (2015). Fungal Melanin: What do We Know About Structure? *Frontiers in Microbiology*, 6. doi: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2015.01463>
19. Eisenman, H. C., Casadevall, A. (2011). Synthesis and assembly of fungal melanin. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 93 (3), 931–940. doi: <https://doi.org/10.1007/s00253-011-3777-2>
20. Plonka, P., Grabacka, M. (2006). Melanin synthesis in microorganisms – Biotechnological and medical aspects. *Acta biochimica Polonica*, 53 (3), 429–443.
21. Dufossé, L., Fouillaud, M., Caro, Y., Mapari, S. A., Sutthiwong, N. (2014). Filamentous fungi are large-scale producers of pigments and colorants for the food industry. *Current Opinion in Biotechnology*, 26, 56–61. doi: <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2013.09.007>
22. Pombeiro-Sponchiado, S. R., Sousa, G. S., Andrade, J. C. R., Lisboa, H. F., Gonçalves, R. C. R. (2017). Production of Melanin Pigment by Fungi and Its Biotechnological Applications. *Melanin*. doi: <https://doi.org/10.5772/67375>
23. Kondratyuk, T. O., Kondratyuk, S. Y., Morgaienko, O. O., Khimich, M. V., Beregova, T. V., Ostapchenko, L. I. (2015). *Pseudonadsoniella brunnea* (Meripilaceae, Agaricomycotina), a new brown yeast-like fungus producing melanin from the Antarctic; with notes on nomenclature and type confusion of *Nadsoniella nigra*. *Acta Botanica Hungarica*, 57 (3-4), 291–320. doi: <https://doi.org/10.1556/034.57.2015.3-4.5>
24. Kondratiuk, T., Beregova, T., Ostapchenko, L. (2017). Antibacterial and antifungal influence of a melanin producer *Pseudonadsoniella brunnea* culture fluid. Antimicrobial activity of natural substances. Poznań: Publisher Joanna Bródka JB Books, 2–19.
25. Taburets, O. V. et al. (2016). The Effect of "Melanin-Gel" on the Wound Healing. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences (RJPBCS)*, 7 (3), 2031–2038.
26. Dranitsina, A. S. et al. (2017). Tgfb1, Ptg2 Genes Expression During Dynamics of Wound Healing and with the Treatment of Melanin. *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences (RJPBCS)*, 8 (1), 2014–2023.
27. Falalyeyeva, T. M., Tsyryuk, O. I., Chyizhanska, N. V., Zharova, V. P. (2009). The Influence of Melanin Isolated from Antarctic Yeasts on Cortisol Blood Level in the Rats in conditions of Stress Action. *Ukrainskyi antarktychnyi zhurnal*, 8, 391–394.
28. Malt extract. URL: https://foodsafety.neogen.com/pdf/acumedia_pi/7341_pi.pdf
29. ТУ У 15.8–32671885-001:2011. Ячмінно-солодовий екстракт ЯСЕ-3.
30. Махінько, Л. В., Ковбаса, В. М., Герасименко, О. В., Смельянова, Н. О., Ковалевська, С. І., Піддубний, В. А. (2004). Використання солодових екстрактів у продуктах ко-екструзії. *Наук. пр. Нац. ун-ту харч. технологій*, 15, 68–70.
31. Microbial Biotechnology: Principles and Applications. URL: <https://books.google.com.ua/books?id=P3enKvasnywC&pg=PA58&lpg=PA58&dq=typical+composition+of+malt+extract>
32. Авчичева, П. Б., Бугорова, И. А. и др. (2006). Пат. № 2278163 RF. Способ получения меланина. заявл. 22.09.2004; опубл. 20.06.2006, Бюл. № 17. URL: <http://www.freepatent.ru/images/patents/190/2278163/patent-2278163.pdf>

Received date 10.04.2019

Accepted date 15.05.2019

Published date 30.06.2019

Кондратюк Тетяна Олексіївна, кандидат біологічних наук, старший науковий співробітник, НДІ «Фармакології і експериментальної патології», ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка, вул. Володимирська, 64/13, г. Київ, Україна, 01601
E-mail: takbiofak@ukr.net

Берегова Тетяна Володимирівна, доктор біологічних наук, професор, кафедра фундаментальної медицини, ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка, вул. Володимирська, 64/13, г. Київ, Україна, 01601, E-mail: tetyana_beregova@ukr.net

Акуленко Тетяна Володимирівна, Інженер 1-ї категорії, НДІ «Фармакології і експериментальної патології», ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка, вул. Володимирська, 64/13, г. Київ, Україна, 01601,
E-mail: takulenko3993@gmail.com

Верещака Володимир Валентинович, доктор біологічних наук, старший науковий співробітник, НДІ «Фармакології і експериментальної патології», ННЦ «Інститут біології та медицини» Київського національного університету імені Тараса Шевченка, вул. Володимирська, 64/13, г. Київ, Україна, 01601
E-mail: www090675@gmail.com