

В. М. Ліновицька

## БІОТЕХНОЛОГІЯ ЕКЗОПОЛІСАХАРИДІВ З ВИЩОГО БАЗИДІОМІЦЕТУ *SCHIZOPHYLLUM COMMUNE*

Визначено сприятливі для біосинтезу екзополісахаридів та біомаси комплексні поживні середовища з глюкозою, нітратом амонію, мелясою та кукурудзяним екстрактом. Запропоновано біотехнологію виробництва шизофілану

**Ключові слова:** біотехнологія, *Schizophyllum commune*, шизофілан, глибинне культивування, комплексні рідкі поживні середовища

### 1. Вступ

Дослідження різних видів лігнотрофних базидіоміцетів, що за сучасними даними мають імуностимулюючу, антиоксидантну, протипухлинну, антивірусну та адаптогенну дію є надзвичайно важливою проблемою для України. Біологічно активними речовинами, що обумовлюють лікувальні властивості таких препаратів є в першу чергу глюкани: грифолан, лентинан, шизофілан, коріолан тощо. Шизофілан - нейтральний  $\beta$ -1,3-глюкан, виділений з культуральної рідини вищого базидіального гриба *Schizophyllum commune*, посилює клітинний імунітет та впливає на протипухлинні механізми. При цьому відбувається активація макрофагів, нейтрофілів та натуральних кілерних клітин по відношенню до пухлинних клітин та підвищується синтез інтерлейкінів та фактору некрозу пухлин [1-3].

З огляду на те, що виробництво, які використовують глибинне культивування вищих базидіоміцетів на даний час в Україні не існує, розробка та впровадження в промисловість вітчизняних біотехнологій є актуальним. Також, важливим, з точки зору створення та розробки нових біотехнологій з використанням в якості продуценту *Schizophyllum commune*, є те, що з нього можна не тільки отримати продукти лікувально-профілактичного, а й промислового призначення, наприклад, різноманітні гідролітичні ферменти. Крім того, застосуванням в якості компонентів поживних середовищ ряду дешевих побічних продуктів та відходів сільськогосподарського та промислового походження можна як підвищити ефективність виробництва, так і сприяти їх утилізації.

### 2. Постановка проблеми

Таким чином для розробки біотехнології отримання сучасного лікувально-профілактичного протипухлинного препарату, діючою речовиною якого є екзополісахарид шизофілан необхідна оцінка різних штамів вищого базидіоміцету *Schizophyllum*

*commune*, відбір найпродуктивнішого та встановлення оптимальних умов глибинного культивування, в тому числі підбір компонентів поживних середовищ, температури, інтенсивності перемішування, терміну вирощування тощо.

### 3. Основна частина

#### 3.1 Аналіз літературних джерел по темі дослідження

Основою будь-якої біотехнології є біосинтез цільового продукту, для чого необхідні відомості щодо оптимального режиму глибинного культивування, які для *S. commune* в літературі висвітлено недостатньо. В основному, в якості середовищ використовують сольові розчини з додаванням глюкози (20-40 г/дм<sup>3</sup>) та різноманітних джерел ростових факторів – пептон, дріжджовий екстракт, картопляний відвар, мальць-екстракт тощо [4-9]. Але наведені авторами дані не завжди повні і іноді суперечливі, тому існує необхідність в поглиблених дослідженнях *S. commune* в різних умовах культивування, як з точки зору створення нових вітчизняних біотехнологій отримання різноманітних БАР, в першу чергу полісахаридів лікувально-профілактичного призначення, так і в напрямку розширення теоретичних знань стосовно біології цього базидіоміцету.

#### 3.2. Результати досліджень

В результаті проведених досліджень 6 штамів вищого базидіального гриба *Schizophyllum commune* на рідких поживних середовищах різного складу, встановлено закономірності росту і біосинтетичної активності та умови сприятливі для накопичення екзополісахариду та запропоновано біотехнологію отримання шизофілану.

З цієї метою, було визначено кращі для гриба джерела вуглецю (глюкоза, гліцерин та маніт) та азоту (пептон, триптофан та нітрат амонію). Також встановлено оптимальний вміст азоту та вуглецю

в середовищі - для максимального накопичення біомаси концентрація глюкози - 30 г/дм<sup>3</sup>, нітрату амонію - 3 г/дм<sup>3</sup>, для максимальної кількості екзополісахаридів - 40 г/дм<sup>3</sup> та 4 г/дм<sup>3</sup> відповідно.

На комплексних середовищах, що в якості ростових факторів та додаткових джерел азоту та вуглецю містили в кількості еквівалентній 1 г/дм<sup>3</sup> глюкози один з наступних компонентів: пивне сусло, бурякова меляса, кукурудзяний екстракт (КЕ), пептон, екстракт кормових дріжджів (ЕКД), найбільший рівень накопичення біомаси виявився у штаму *S.commune* 1760 на середовищах з кукурудзяним екстрактом та мелясою - 6,7±0,2 та 8,8±0,3 г/дм<sup>3</sup> відповідно. Найгіршими середовищами були контрольне (без додаткових компонентів) та з суслом. Визначення накопичення екзополісахаридів на комплексних поживних середовищах показало, що їх максимальна кількість виявляється також у штаму *S.commune* 1760 на середовищі з кукурудзяним екстрактом - 5,42±0,51 г/дм<sup>3</sup>.

Дослідженнями встановлено, що динаміка концентрації РР, білку та рН в культуральному фільтраті *S.commune* при культивуванні на комплексних середовищах залежать, в першу чергу, від складу середовища та пов'язані з наявністю речовин-індукторів та хімічною природою сполук, що є джерелами вуглецю для гриба. Визначено, що для отримання екзополісахаридів у досліджуваного штаму необхідно створювати вихідне значення рН середовища 8,0, а для більшого виходу біомаси - 5,4.

Запропоновано умови вирощування та розроблено принципів технологічну та апаратну схеми отримання шизофілану глибинним культивуванням штаму *S.commune* 1760 на комплексних поживних середовищах з кукурудзяним екстрактом і мелясою, механічним перемішуванням 180 об/хв, при температурі +30°C, тривалістю 5 діб, що дає змогу отримувати достатньо високий рівень екзополісахаридів та біомаси - 9,02±0,28 г/дм<sup>3</sup> та 16,1±0,4 г/дм<sup>3</sup> біомаси, відповідно.

#### Література

1. Therapeutic intervention with complement and b-glucan in cancer [Text] / G. Ross, V. Vetvicka, Y. Xia, J. Vetvickova // Immunopharmacology - 1999. - Vol. 42. - P. 61-74.
2. The effect of (1→3)-β-D-glucans, carboxymethylglucan and schizophyllan on human leukocytes in vitro [Text] / L. Kubala, J. Ruzickova, K. Nickova, et al. // Carbohydr. Res. - 2003. - Vol. 338, No. 24. - P. 2835-2840.
3. Wasser, S. P. Medicinal mushrooms: ancient traditions, contemporary knowledge and scientific enquiries [Text] / S. P. Wasser // International Journal of Medicinal Mushrooms. - 2007. - Vol. 9, No. 3/4. - P. 187-188.
4. Бухало, А. С. Высшие съедобные базидиомицеты в чистой культуре [Текст] / А. С. Бухало. - Киев : Наукова думка, 1988. - 144 с.
5. Ліновицька, В. М. Культуральні та морфологічні особливості лікарського гриба *Schizophyllum commune* Fr. (Basidiomycetes) на агаризованих живильних середовищах [Текст] / В. М. Ліновицька, А. С. Бухало // Український ботанічний журнал. - 2005. - Т. 62, № 1. - С. 78-86.
6. Скрининг штаммов лекарственных макромицетов в коллекции культур шляпочных грибов [Текст] / А. С. Бухало, Н. Л. Поединок, О. Б. Михайлова, М. Л. Ломберг // Успехи медицинской микологии. - М.: Национальная академия микологии, 2007. - Т. 9 - С. 227-230.
7. Ліновицька, В. М. Ріст і біосинтетична активність *Grifola frondosa* (Dicks: Fr.) S.F.Gray та *Schizophyllum commune* Fr. в глибинній культурі [Текст] / В. М. Ліновицька, А. С. Бухало // Український ботанічний журнал. - 2008. - Т. 65, № 1. - С. 104-112.
8. Гвоздкова, Т. С. Оценка возможности использования базидиальных грибов в качестве источников биоактивных липидных компонентов [Текст] / Т. С. Гвоздкова, Т. В. Черноок, Т. В. Филимонова [и др.] // Успехи медицинской микологии. - М.: Национальная академия микологии, 2007. - Т. 9 - С. 151-154.
9. Yassin, M. Submerged cultured mycelium extracts of higher basidiomycetes mushrooms selectively inhibit proliferation and induce differentiation of K562 human chronic myelogenous leukemia cells [Text] / M. Yassin, J. A. Mahajana, S. P. Wasser // International Journal of Medicinal Mushrooms. - 2003. - Vol. 5. - P. 261-276.

#### БИОТЕХНОЛОГИЯ ЭКЗОПОЛИСАХАРИДОВ ИЗ ВЫСШЕГО БАЗИДИОМИЦЕТА SCHIZOPHYLLUM COMMUNE

В. М. Линовицкая

Определены благоприятные для биосинтеза экзополисахаридов и биомассы комплексные питательные среды с глюкозой, нитратом аммония, мелясой и кукурузным экстрактом. Предложена биотехнология производства шизофилана

**Ключевые слова:** биотехнология, *Schizophyllum commune*, шизофилан, глубинное культивирование, комплексные жидкие питательные среды

*Vita Михайловна Линовицкая, соискатель кафедры промышленной биотехнологии Национального технического университета Украины "Киевский политехнический институт", тел. (097)6836758, e-mail: vmail@bigmir.net*

#### BIOTECHNOLOGY OF POLYSACCHARIDES FROM HIGHER BASIDIOMYCETES SCHIZOPHYLLUM COMMUNE

V. Linovyt'ska

Complex nutrient mediums with glucose, ammonium nitrate, molasses and corn extract for biosynthesis of exopolysaccharide and biomass were determined. Biotechnology of schizophyllan was proposed

**Keywords:** biotechnology, *Schizophyllum commune*, schizophyllan, submerged cultivation, complex liquid nourishing mediums

*Vita Linovyt'ska, applicant of the department of industrial biotechnology of the National technical university of Ukraine "Kiev polytechnic institute", tel. (097)6836758, e-mail: vmail@bigmir.net*