

# ДОСЛІДЖЕННЯ АКТИВНОСТІ МОНОФЕНОЛМОНООКСИГЕНАЗИ У БАЗИДІЄВОГО ГРИБА *GRIFOLA FRONDOSA* В ГЛИБИННІЙ КУЛЬТУРІ

Литвин Н.С., Ліновицька В.М.

КПІ ім. Ігоря Сікорського, [nadialytvyn2002@gmail.com](mailto:nadialytvyn2002@gmail.com)

## Abstract

*The presented materials are dedicated to the study of the basidiomycete *Grifola frondosa* in submerged culture. The influence of the composition of the medium was established and the most favorable glucose concentration for the accumulation of mycelial biomass was determined, and the activity of the monophenol monooxygenase enzyme was revealed.*

**Keywords:** *Grifola frondosa, monophenol monooxygenase, submerged culture*

**Вступ.** У сучасному світі, де наука і технології постійно розвиваються, вивчення ферментів грибів має величезне значення для різних сфер життя людини. Як природне джерело різноманітних біологічно активних речовин, гриби мають великий потенціал для використання в таких галузях, як медицина, харчова промисловість, сільське господарство [1-4]. Одним із важливих ферментів, який привернув увагу дослідників, є монофенолмонооксигеназа (МФМО), яка відіграє важливу роль у біосинтезі фенольних сполук у базидієвого гриба *Grifola frondosa* і є одним із об'єктів дослідження через його великий потенціал у фармацевтичній, харчовій та косметичній промисловості.

Саме тому дослідити активність МФМО у *G. frondosa* та розглянути вплив різних факторів на його продукцію є актуальним. Розуміння цих процесів може не тільки розширити наші знання про біохімічні властивості цього гриба, але й відкрити нові можливості для виробництва біологічно активних речовин і їх використання у виробництві біологічно активних речовин.

Мета представленого дослідження — визначення найбільш сприятливої концентрації глюкози в рідкому середовищі для накопичення міцеліальної біомаси *G. frondosa* та вивчення активності монофенолмонооксигенази у штаму базидієвого гриба *G. frondosa*.

**Матеріали та методи.** Об'єктом дослідження був штам *Grifola frondosa* 1707 з Колекції шапинкових грибів Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України ІБК.

Посівний матеріал для глибинного культивування штаму *G. frondosa* отримували перенесенням з пробірок з агаризованим пивним суслим декількох шматочків міцелію у колби об'ємом 250 мл з 100 мл рідкого середовища (неохмелене пивне сусли 8° за Балінгом, рН=5,5-5,8) з подальшим культивуванням протягом 5-6 діб в умовах постійного перемішування на орбітальній качалці (60-70 об/хв) за температури 28 °С. Отриманий інокулюм вносили в досліджувані середовища у кількості 10 об'ємних відсотків. Глибинне культивування проводили на орбітальному шейкері в умовах постійного перемішування (120 об/хв), в колбах Ерленмеєра на 250 мл, за температури 28 °С, протягом 10 діб, в трьох повторах.

Досліджуваним середовищем було глюкозо-пептон-дріжджове середовище, яке складалося з наступних компонентів (г/дм<sup>3</sup>): пептон – 3,0;

дріжджовий екстракт – 5,0; глюкоза – 20,0, 30,0, 40,0 або 50,0; рН=6,5-6,8.

Рівень накопичення біомаси (абсолютно суху біомасу, а.с.м.) визначали ваговим методом, висушуючи міцелій до постійної маси за температури 105°C.

Активність окислювального ферменту монофенолмонооксигенази встановлювали за зміною забарвлення розчину бензидину, спектрофотометрично [5, 6].

**Результати та обговорення.** В результаті проведеного глибинного культивування було визначено, що максимальне накопичення міцеліальної біомаси спостерігалось у штаму *G. frondosa* на середовищі з додаванням глюкози в кількості 40,0 г/дм<sup>3</sup> і становило 3,95 - 4,10 г/дм<sup>3</sup>.

Монофенолмонооксигеназна активність, хоча й проявлялася, була незначною – слабке посиніння субстрату (бензидин), спостерігалось через 1 год інкубування з культуральним фільтратом і не залежала від зміни концентрації глюкози в середовищі. Відсутність активності даного окислювального ферменту пояснюється тим, що в середовищі не було фенольних сполук, як індукторів біосинтезу МФМО.

Схожі результати були отримані авторами при дослідженні інших двох штамів *G. frondosa* [7].

**Висновки.** Отже, за умов використання як поживних компонентів в рідкому живильному середовищі глюкози в різній концентрації, пептону та дріжджового екстракту, для дослідженого штаму базидієвого гриба *G. frondosa* активність монофенолмонооксигенази практично виявлена не була. Для продукування даного фермента грибом *G. frondosa* необхідно подальші дослідження та підбір середовищ з фенольними речовинами, наприклад з додаванням лігноцелюлозних компонентів.

### Список використаної літератури:

1. Xiaoyi Liu, Shuai Chen, Huijuan Liu, Structural properties and anti-inflammatory activity of purified polysaccharides from Hen-of-the-woods mushrooms (*Grifola frondosa*). *Front Nutr*, 2023, doi: 10.3389/fnut.2023.1078868.
2. Miomir Nikšić, Bojana Boh Podgornik, Marin Berovic, Farming of Medicinal Mushrooms. *Adv Biochem Eng Biotechnol*, 2023, 184:29-76, doi: 10.1007/10\_2021\_201.
3. Feng-Jie Cui, Yu-Meng Yang, Lei Sun, Xin-Yi Zan, Wen-Jing Sun, Umar Zeb, *Grifola frondosa* polysaccharides: A review on structure/activity, biosynthesis and engineering strategies. *J Biol Macromol*, 2024, 257(Pt 1):128584, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2023.128584.
4. Дзигун Л.П., Ліновицька В.М. Отримання міцеліальної біомаси лікувальних грибів *Grifola frondosa* та *Laetiporus sulphureus* на синтетичних середовищах. *Innovative Biosystems and Bioengineering*, 2019. Vol. 3, no. 4. P. 239–245. DOI: <https://doi.org/10.20535/ibb.2019.3.4.186329>.
5. Shupranova, L., Holoborodko, K., Guslistiy, A., Shulman, M., & Pakhomov, O. Peroxidase activity and isoenzyme composition in *Robinia pseudoacacia* L. leaves under the influence of *Parectopa robiniella* Clemens, 1863. *Agrology*, 2021, 4(4), P. 174-179. <https://doi.org/10.32819/021020>
6. Gregory, R.P.F. A rapid assay for peroxidase activity. *Biochem. J*, 1966, 101 (3), 582–583.
7. Литвин Н.С., Ліновицька В.М. Дослідження активності монофенолмонооксигенази у базидієвого гриба *Grifola frondosa* // Світ наукових досліджень. Випуск 28: матеріали Міжнародної мультидисциплінарної наукової інтернет-конференції (м. Тернопіль, Україна, м. Опале, Польща, 21-22 березня 2024 р.) / за ред. : О. Патряк та ін. ГО “Наукова спільнота”, WSZIA w Opolu. Тернопіль: ФОП Шпак В.Б. 2024. С. 168- 171.