

СУПРУН С.М.¹, ДОНЧЕНКО Г.В.¹, ПАРХОМЕНКО Ю.М.¹, ХАРКЕВИЧ Е.С.²,
АРЕТИНСКАЯ Т.Б.³, КУРЧЕНКО И.Н.², СТЕПАНЕНКО С.П.¹, КУЧМЕРОВСКАЯ Т.М.¹

¹ Институт биохимии им. А.В. Палладина НАН Украины,

Украина, 01601, г. Киев, ул. Леонтовича, 9, e-mail: sst@biochem.kiev.ua

² Институт микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН Украины,

Украина, 03143, г. Киев, ул. Академика Заболотного, 154

³ Национальный университет биоресурсов и природопользования Украины,

Украина, 03041, г. Киев, ул. Героев обороны, 15

ВЛИЯНИЕ ЦИНКА НА БИОЛОГИЧЕСКУЮ ЦЕННОСТЬ ГРИБНОГО ПРЕПАРАТА

Достижения в области нанотехнологий позволяют иначе подойти к решению актуальной в Украине проблемы обогащения необходимыми микроэлементами кормов для животных. Применение наночастиц цинка, учитывая их биологическую и антибактериальную активность, является перспективным, поскольку предотвращает последствия использования солей металлов в животноводстве, мало соответствующих биологическим потребностям животных и лишь в незначительной степени усваивающихся, а также ухудшающих состояние окружающей среды и продуктов питания соответственно.

Цинк принимает участие в процессах лигандообразования с органическими молекулами, что объясняет широкий спектр его функций в биологических системах. Этот элемент относительно безопасен, в отличие от железа, серебра и меди он не имеет окислительных свойств, что улучшает транспорт и метаболизм цинка в живом организме и его биологическую усвояемость. Цинк незаменим для экспрессии генов и метаболизма нуклеиновых кислот, а соответственно процессов роста и дифференциации клеток, а потому играет особую роль в раннем возрасте развития особи и периоде полового созревания [1]. Цинк – структурный компонент биологических мембран, клеточных рецепторов, протеинов, входит в состав более чем 200 ферментных систем. Данный биометалл – структурный компонент РНК-полимеразы, ДНК-полимеразы, алкогольдегидрогеназы, карбоксипептидазы, пируваткарбоксилазы, супероксиддисмутазы и многих других. Это позволяет сделать вывод о широком спектре метаболической активности этого элемента [2, 3].

Микромицеты, благодаря способности легко адаптироваться к условиям обитания и продуцировать широкий спектр биологически ак-

тивных соединений, занимают центральные позиции в биотехнологии как продуценты целого ряда биологически активных веществ. Они представляют интерес также как источник белков, которые по аминокислотному составу сходны с животными. При этом выгодно отличаются от животного белка низкими калорийностью и содержанием нуклеиновых кислот, а также наличием хитина и пищевых волокон. Все вышеперечисленное является основанием использования атоксигенных грибов для получения обогащенных витаминами кормовых и пищевых белковых добавок [4–6].

Функциональные нанобиоматериалы являются комплексными соединениями, по своей структуре и химической чистоте входящих микроэлементов очень близки к тем биометаллорганическим соединениям, которые синтезируются в живых клетках. Поэтому эти микроэлементы при попадании в живую клетку воспринимаются ею не как чужеродные элементы, что и обеспечивает их высокую биосовместимость [7]. Введение в среду культивирования грибов нанометрических биогенных металлов является перспективным для получения белково-витаминных препаратов с новыми полезными свойствами.

Цель исследования – получение и исследование цинксодержащего препарата на основе селекционированных штаммов микромицетов.

Материалы и методы

В работе были использованы ранее селекционированные штаммы микромицетов, отобранные как продуценты витаминов и коферментов: *Mycelia sterilia* F-100014 – продуцент тиамин, *Fusarium sambucinum* F-139 – продуцент витамина РР (никотиновой кислоты) и его производных, *Fusarium sambucinum* F-100011 – никотиновой, пантотеновой кислот, тиамин,

Penicillium sclerotiorum F-100015 – каротиноидов, *Fusarium sambucinum* F-199 – коэнзима А (CoA), убихинона Q₁₀. Штаммы депонированы и хранятся в Коллекции микроорганизмов Института микробиологии и вирусологии им. Д.К. Заболотного НАН Украины, ряд штаммов защищены патентами [8–10].

Культивирование микромицетов, получение и определение состава препаратов осуществляли описанным ранее способом [11]. Нами был использован новый методический прием, заключающийся в добавлении наноаквахелата цинка (0,005; 0,01; 0,02 г/л) не в готовый препарат, а в среду культивирования для получения обогащенного продукта. Проведены опыты по доклиническому испытанию препаратов на различных группах животных – насекомых, рыбах, птицах и получены положительные результаты [11]. Процентное соотношение гемоцитов устанавливали в конце 4 возраста гусениц дубового шелкопряда и соответственно классифицировали [12].

Результаты и обсуждение

Показано, что исследованные штаммы синтезируют комплекс незаменимых аминокислот. Так, в мицелии *Fusarium sambucinum* F-139 общая сумма аминокислот составляла 27,68 мг/100 мг продукта, с преобладанием лизина, лейцина, аспарагиновой кислоты; у *Fusarium sambucinum* – F-199 – 25 мг/100 мг биомассы, с преобладанием глутаминовой и аспарагиновой кислот. У штамма *Fusarium sambucinum* F-139 – идентифицировано 26 жирных кислот, в том числе из насыщенных жирных кислот пальмитиновой, пальмитолеиновой, отмечено превалирование полиненасыщенных жирных кислот (они составляют до 70 % АСВ): олеиновой (23,2 %), линолевой (46,2 %),

линоленовой (6,95 %) и арахидоновой (2–6 %). В плане биологической ценности особый интерес представляет наличие полиненасыщенных жирных кислот, являющихся предшественниками простагландинов и входящих в состав структурных элементов мембран [13]. Такое высокое содержание ненасыщенных жирных кислот отмечено только в плодовых телах некоторых базидиальных грибов [14]. Следует отметить, что ненасыщенные жирные кислоты линолевая, линоленовая, пальмитолеиновая и арахидоновая не синтезируются животным организмом, их отсутствие вызывает симптомы недостаточности жирных кислот. Это угнетает рост молодых и репродуктивную функцию половозрелых животных, вызывает дерматиты, уменьшает коагулятивные свойства крови [15].

Белок монокультур исследованных штаммов содержал незаменимые аминокислоты лизин, валин, треонин, лейцин, аргинин (10,15–19,01 мг/г АСВ). Лейцин повышает интенсивность ростовых процессов в животном организме; лизин необходим для продуктивности и нормального состояния кожных покровов; аргинин – для нормального функционирования сердечнососудистой и половой систем [15–17]. При совместном культивировании *F. sambucinum* и *Mycelia sterilia* биомасса содержала валин и глицин в больших количествах. Валин – одна из 8 незаменимых аминокислот, предшественник пантотеновой кислоты (В5), защищает миелиновые оболочки нервных волокон, глицин – нейромедиаторная аминокислота, обладает ноотропным действием. Комплекс лейцина, изолейцина и валина – мощный источник энергии [17, 19]. Штамм *Fusarium sambucinum* F-139 по ряду по-

Таблица

Содержание незаменимых аминокислот в мицелии изученных штаммов

Аминокислота	Содержание аминокислот у разных штаммов, мг/г АСВ			
	<i>F. sambucinum</i> F-139*	<i>F. sambucinum</i> F-199	<i>F. sambucinum</i> F-139	совместная культура <i>F. sambucinum</i> и <i>Mycelia sterilia</i>
Валин	35,80	11,56	15,35	20,30
Изолейцин	13,30	6,39	11,70	9,10
Лейцин	21,58	10,24	18,38	12,70
Лизин	22,77	10,42	19,31	12,90
Метионин	6,04	2,88	6,17	3,60
Треонин	17,17	11,75	15,68	14,90
Фенилаланин	7,77	5,04	11,14	6,10
Триптофан	3,1	2,45	2,13	2,50
Сумма незаменимых аминокислот	127,53	60,73	99,08	83,0

Примечание. * – 0,02 г/л Zn в среде, производственные условия.

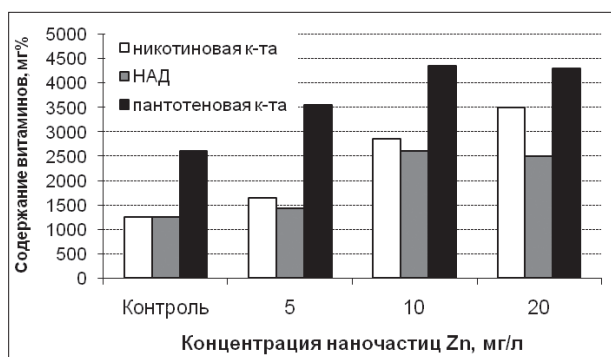
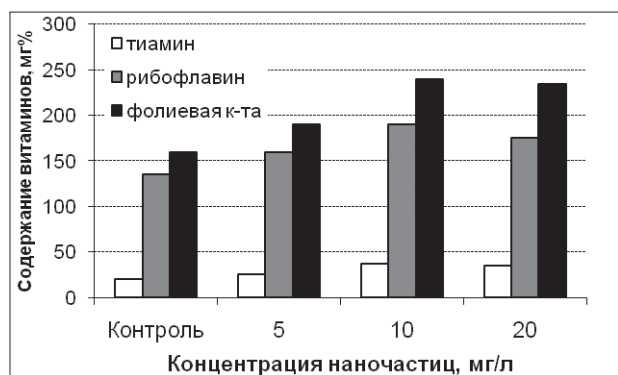


Рис. 1. Влияние добавки наноаквахелата цинка в среду культивирования *Fusarium sambucinum* F-139 на содержание витаминов в препарате: 1 – контроль; опыт (введение наноаквахелата цинка в среду): 2 – 0,005 г/л; 3 – 0, 01 г/л; 4 – 0,02 г/л

казателей превосходил *Fusarium sambucinum* F-199 (табл.).

Наличие витаминов в кормах необходимо при вскармливании животных [18, 19]. Введение наноаквахелата цинка в среду Чапека для выращивания гриба *F. sambucinum* F-139 значительно повышало содержание биологически активных веществ, в том числе и витаминов (рис. 1).

Полученный белково-витаминный препарат имеет широкий спектр природных биологически активных веществ (витаминов, коферментов, незаменимых аминокислот, ненасыщенных жирных кислот). В препарате содержится значительное количество никотиновой, пантотеновой кислот и их производных, в частности NAD^+ , CoA . В целом компоненты препарата, обладая антиоксидантными и иммуномодулирующими свойствами, обуславливают его высокую биологи-

ческую активность. Результаты исследования форменных элементов крови гусениц шелкопряда свидетельствуют о стимулировании неспецифического иммунитета насекомых, улучшении их физиологического состояния и усиления процесса дифференциации гемоцитов. Так, при использовании препарата 2 наблюдается максимальное увеличение числа микронуклеоцитов, дифференцированных клеток гемолимфы, участвующих в переносе веществ, необходимых в метаболических процессах, относительно контроля. Общее содержание фагоцитов, мертвых и патологических клеток в опытных вариантах достоверно снизилось по сравнению с контролем (рис. 2).

Выводы

Полученные результаты свидетельствуют о том, что введение в среду культивирования наноаквахелата цинка способствует повышению биологической ценности грибного препарата, в частности увеличивается содержание витаминов группы В (никотиновой, пантотеновой кислот, тиамин), незаменимых аминокислот и ненасыщенных жирных кислот.

Проведенные ранее доклинические испытания препаратов на разных группах животных [11] и данные влияния цинксодержащих препаратов на состав гемолимфы шелкопряда показали улучшение роста и развития, выживаемости, улучшение биологических и иммунологических характеристик. Проведенные исследования подтверждают перспективность использования данных препаратов для повышения производственных показателей и природной резистентности животных.

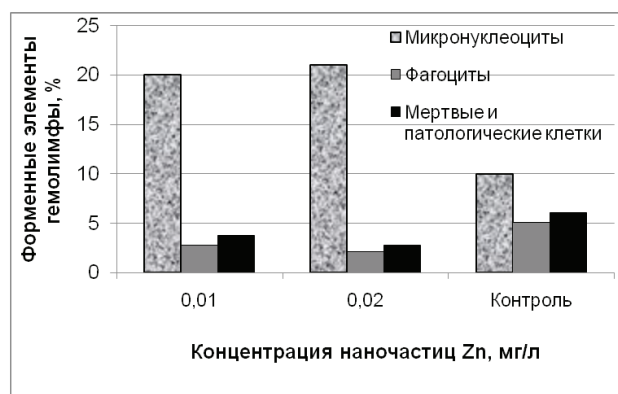


Рис. 2. Влияние грибного препарата с нанозинком на соотношение форменных элементов гемолимфы гусениц дубового шелкопряда

ЛИТЕРАТУРА

1. Sandstead H.H. Zinc deficiency. A public health problem? // *Am. J. Dis. Child.* – 1991. – 145, N 8. – P. 853–859.
2. Prasad A.S. Zinc: role in immunity, oxidative stress and chronic inflammation // *Curr. Opin. Clin. Nutr. Metab. Care.* – 2009. – 12, N 6. – P. 646–652.
3. Risby T.H. et al. Ultratrace Metal Analysis in Biological Sciences and Environment. *Advances in Chemistry Series. American Chemical Society, Washington D.C.* – 1979. – N 172.
4. Wainwright M. Novel use for fungi in biotechnology // *Chem. Ind.* – 1990. – N 2. – P. 131–134.
5. Naylor T.W., Williamson T., Trinci A.P.J., Robson G.D., Wiebe M.G. Fungal food. Patent WO 97/22686 GB, C12N 1/08. Zeneca limited, GB/GB, Locke T.J. – PCT/GB96/03046; 16.12.95; 26.06.1997.
6. Феофилова Е.П., Алехин А.И., Гончаров Н.Г., Мысякина И.С., Сергеева Я.Э. Фундаментальные основы микологии и создание лекарственных препаратов из мицелиальных грибов. – М.: Национальная академия микологии, 2013. – 152 с.
7. Копилевич В.А., Максин В.И., Каплуненко В.Г., Косинов М.В. Функциональные наноматериалы для потребностей сельского хозяйства // *Вісник НАУ.* – 2008. – № 130. – С. 349–354.
8. Пархоменко Ю.М., Супрун С.М., Донченко Г.В., Жданова Н.М. Вітамінно-коферментний препарат. Патент України на винахід № 15475 від 30.06. 95. Бюл. № 3.
9. Аретинська Т.Б., Донченко Г.В., Пархоменко Ю.М., Супрун С.М., Трокоз В.О., Кириченко І.О., Харкевич О.С. Спосіб одержання хітинвмісного кормового вітамінного препарату грибного походження. Патент України на винахід № 49548 від 15.12.2004, Бюл. № 12.
10. Донченко Г.В., Пархоменко Ю.М., Супрун С.М., Кучмеровська Т.М., Харкевич О.С., Курченко І.М., Аретинська Т.Б. Спосіб одержання білково-вітамінного продукту на основі грибів *Fusarium sambucinum* IMB F-100011 і *Mycelia sterilia* (white) IMB F-100014. Патент України на винахід № 90403 від 26.04.2010, Бюл. № 8.
11. Супрун С.М., Донченко Г.В., Пархоменко Ю.М., Харкевич Е.С., Курченко І.Н., Аретинська Т.Б., Степаненко С.П. Лечебно-профилактические свойства цинксодержащей витаминно-протеиновой добавки // *Фактори експериментальної еволюції організмів : зб. наук. праць / Під ред. В.А. Кунаха.* – К.: Логос, 2014. – 15. – С. 242–246.
12. Сиротина М.С., Черная Г.С. Анализ гемолимфы вредителей и прогноз массового размножения хвое- и листогрызущих насекомых в лесах СССР // *Лесная промышленность.* – 1965. – 5. – С. 137–170.
13. Болдырев А.А., Кяйвярайнен Е.И., Илюха В.А. Биомембранология. –Петрозаводск, 2006. – 226 с.
14. Феофилова Е.П., Горнова И.Б., Меморская А.С., Гарибова Л.В. Липидный состав плодовых тел и глубинного мицелия *Lentinula edodes* (Berk.) sing [*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler] // *Микробиология.* – 1998. – 67, № 5. – С. 655–665.
15. Химический состав пищевых продуктов. Справочные таблицы содержания аминокислот, жирных кислот, витаминов, макро- и микроэлементов, органических кислот и углеводов / Под. ред. М.Ф. Нестерина, И.М. Скурихина. – М.: Пищевая промышленность, 1979. – 248 с.
16. Калунянц К.А., Ездаков Н.В., Пивняк И.П. Применение продуктов микробиологического синтеза в животноводстве. – М.: Колос, 1980. – 288 с.
17. Майстер А. Биохимия аминокислот. – М.: Изд-во иностр. лит., 1961. – 530 с.
18. Менькин В.К. Кормление сельскохозяйственных животных. – М.: Колос, 1997. – 202 с.
19. Колотилова А.И., Глушанков Е.П. Витамины. Химия, биохимия и физиологическая роль. – Л.: Ленингр. гос. ун-т, 1976. – 247 с.

SUPRUN S.M.¹, DONCHENKO G.V.¹, PARKHOMENKO J.M.¹, KHARKEVICH E.S.², ARETINSKAYA T.B.³, KURCHENKO I.N.², STEPANENKO S.P.¹, KUCHMEROVSKAYA T.M.¹

¹ *Palladin Institute of Biochemistry NASU, Ukraine,*

Ukraine, 01601, Kyiv, Leontovicha str., 9, e-mail: sst@biochem.kiev.ua;

² *D.K. Zabolotny Institute of Microbiology and Virology NASU,*

Ukraine, 03143, Kyiv, Akademika Zabolotnogo str., 154

³ *National University of Life and Environmental Sciences of Ukraine,*

Ukraine, 03041, Kyiv, Heroyiv Oborony str., 15

ZINC INFLUENCE ON BIOLOGICAL VALUE OF FUNGAL PREPARATION

Aims. Obtaining and investigation of zinc-containing preparation on the basis of selected strains of micromycetes. **Methods.** New methodical technique consisting in adding of zinc aquachelate in cultivation medium to obtain the enriched product was used. **Results.** The obtaining protein-vitamin preparations had a wide range of natural biologically active substances: polyunsaturated fatty acids, B group vitamins and their derivatives. The study of hemolymph corpuscles haemocytes indicated stimulation of nonspecific immunity of insects, improving their survival. **Conclusions.** It was established that the addition of zinc aquachelate to the culture medium promoted to improve the biological value of fungal additive. The studies confirmed the prospectivity of using these additives to enhance production indicators and natural resistance of animals.

Keywords: vitamin, protein, aminoacid, fatty acid, fungal preparation.