УДК 579.67; 579.61

## АНТИОКСИДАНТНАЯ АКТИВНОСТЬ КУЛЬТУРАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ DAEDALEOPSIS TRICOLOR KS11, СОДЕРЖАНИЕ В НЕЙ ФЛАВОНОИДОВ, ПРОСТЫХ ФЕНОЛОВ

## И.Ш. Прозорова, М.А. Сысоева, Е.В. Сысоева, Р.О. Красильников

ФГБОУ ВО «Казанский национальный исследовательский технологический университет» г. Казань, Россия

В последнее время во всем мире интерес ученых к базидиальным грибам как объектам биотехнологии возрос, поскольку они синтезируют соединения, проявляющие биологически активные свойства. Ксилотроф *Daedaleopsis tricolor* при жидкофазном культивировании способен за короткое время накапливать большое количество биомассы, а полученные экстракты его мицелия обладают антирадикальной активностью. В настоящем исследовании определена антиоксидантная активность культуральной жидкости гриба *Daedaleopsis tricolor* KS11, полученной при погруженном культивировании на 1, 5 и 7 сутки, с помощью фосфомолибденового, фенантролинового методов и удалению радикалов DPPH. Также в ней измерено содержание простых фенолов и флавоноидов. Выявлено, что содержание исследуемых соединений и антиоксидантные свойства увеличиваются с течением времени выращивания и достигают максимальных значений к 7 суткам. Полученные данные могут быть использованы для разработки технологий получения продуктов на основе культуральной жидкости гриба *Daedaleopsis tricolor* KS11 для фармацевтических, пищевых и косметических производств.

**Ключевые слова:** культуральная жидкость, *Daedaleopsis tricolor*, антиоксидантная активность, простые фенолы, флавоноиды.

## ANTIOXIDANT ACTIVITY OF DAEDALEOPSIS TRICOLOR KS11 CULTURE LIQUID, ITS CONTENT OF FLAVONOIDS, SIMPLE PHENOLS

I.Sh. Prozorova, M.A. Sysoeva, E.V. Sysoeva, R.O. Krasilnikov Kazan National Research Technological University, Kazan. Russia

Recently, worldwide interest of scientists in basidial fungi as objects of biotechnology has increased, as they synthesize compounds exhibiting biologically active properties. Xylotrophus *Daedaleopsis tricolor* during liquid phase cultivation is able to accumulate a large amount of biomass in a short time, and the obtained extracts of its mycelium have antiradical activity. In this study, the antioxidant activity of the culture fluid of the fungus *Daedaleopsis tricolor* KS11 obtained by submerged cultivation on days 1, 5 and 7 using phosphomolybdenum, phenanthroline methods and removal of DPPH radicals was determined. It also measures the content of simple phenols and flavonoids. It was revealed that the content of the studied compounds and antioxidant properties increase over time of cultivation and reach maximum values by 7 days. The obtained data can be used to develop technologies for the production of products based on the culture liquid of the fungus *Daedaleopsis tricolor* KS11 for pharmaceutical, food and cosmetic industries.

**Keywords:** culture fluid, *Daedaleopsis tricolor*, antioxidant activity, simple phenols, flavonoids.

В качестве продуцентов биологически активных веществ в биотехнологии все чаще стали применять культуры грибов, в том числе дереворазрушающих. Основным объектом исследования при их культивировании являются биомасса и эндометаболиты. Однако

экзометаболиты также представляют практический интерес, поскольку они могут обладать биологически активными свойствами.

Грибы рода Daedaleopsis можно встретить во влажных лесах в России, они распространены в Сибири и на Дальнем Востоке. Плодовые тела этого рода базидиомицетов окрашены в темнокоричневый, красно-бурый цвета [8]. В литературных источниках наибольшее количество сведений наблюдается у двух видов данного рода гриба – Daedaleopsis tricolor и Daedaleopsis confragosa. Они являются продуцентами белков, полисахаридов, каротиноидов, фенольных соединений, флавоноидов и меланина [2, 6]. Из экстрактов как дикорастущих плодовых тел, так и культивируемом мицелии и культуральной жидкости D. tricolor выделены и установлены структуры терпеноидных соединений, некоторые из которых обладают антиоксидантной и антимикробной активностью [4, 9, 10]. Например, соединение 20(29)-люпен-3-он, которое выделено из природного гриба D. tricolor экстракцией петролейным эфиром, проявляет фунгицидное действие против S. cerevisiae и M. gypseum, антибактериальную активность в отношении грамположительных и грамотрицательных бактерий, а также ингибирует перекисное окисление липидов [4]. В работе [2] показано, что в спиртовом и водном экстрактах плодовых тел D. tricolor, произрастающих в природе, содержится больше биологически активных соединений по сравнению с аналогичными экстрактами культивируемого мицелия, но они уступают последним по антиоксидантным свойствам.

Вышеперечисленное показывает перспективу исследования и изучения метаболитов не только природного гриба  $D.\ tricolor$ , но выращенного в искусственных условиях, в качестве источника биологически активных соединений. Целью работы является определение оптимальной фазы роста при погруженном культивировании наиболее высоких антиоксидантных свойств у культуральной жидкости, а также накопления в ней флавоноидов и простых фенолов

Штамм гриба Daedaleopsis tricolor KS11 был выделен и введен в культуру на кафедре биотехнологии ФГБОУ BO «КНИТУ». Для проведения погруженного культивирования использовали 7-суточный инокулят, выращенный на синтетической среде с соевым изолятом (состав, г/л: глюкоза -20; соевый изолят -5;  $KH_2PO_4 - 0.5$ ;  $MgSO_4 - 0.5$ ). Основной процесс культивирования осуществляли на этой же среде в течение 7 суток в шейкере при 27 °C, количество вращений 200 об/мин. В высушенной культуральной жидкости, отделенной от биомассы, определяли содержание фенолов и флавоноидов, а также антиоксидантные свойства на 1, 5, 7 сутки выращивания. Содержание простых фенолов измеряли с помощью реактива 4-аминоантипирина [1], а флавоноидов – с раствором хлорида алюминия [2]. Антиоксидантные свойства определяли тремя методами: фосфомолибденовым (TAC) [7], фенантролиновым (OPM) [5] и удаления радикалов DPPH [3].

Проведено определение содержания простых фенолов и флавоноидов в высушенной культуральной жидкости. Полученные результаты показаны на рис. 1.

Как видно из данных рисунка, при погруженном культивировании гриба D. tricolor KS11 на синтетической среде с соевым изолятом содержание в культуральной жидкости флавоноидов увеличивается на протяжении всего процесса выращивания, а фенолов практически не меняется. Стоит отметить, что на 7 сутки культивирования секретируемых в среду флавоноидов в 6,4 раза больше по сравнению с фенолами. Количество флавоноидов в культуральной жидкости гриба D. tricolor KS11 находятся на уровне их содержания в 70 % этанольном экстракте биомассы  $Daedaleopsis\ tricolor\ Db-14\ (10\pm3\ mr/r)\ [2]$ .

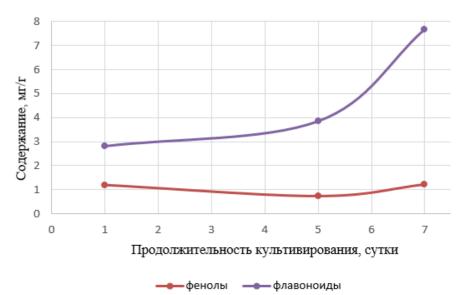


Рисунок 1. Содержание фенолов и флавоноидов в культуральной жидкости *D. tricolor* KS11 от продолжительности культивирования

Результаты определения антиоксидантной активности полученных культуральных жидкостей представлены на рис. 2.

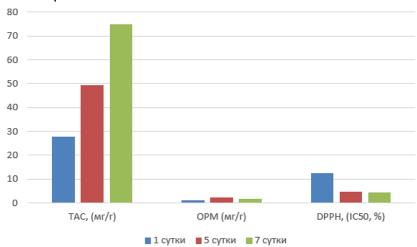


Рисунок 2. Антиоксидантная активность культуральных жидкостей *D. tricolor* KS11

Показано, что при измерении антиоксидантных свойств тремя методами наибольшей активностью обладает культуральная жидкость на 7 сутки выращивания. Значение антиоксидантной активности и содержание флавоноидов коррелируют. Можно предположить, что вклад в данную активность вносят флавоноиды, значение которых к 7 суткам также достигают максимальных значений. В данной работе определены антиоксидантные свойства высушенной культуральной жидкости базидиомицета *D. tricolor* KS11, а также содержание в ней простых фенолов и флавоноидов на протяжении процесса выращивания. Установлено, что к 7 суткам, в стационарной фазе роста, в ней достигается наибольшее количество простых фенолов, флавоноидов, а также она проявляет высокие антиоксидантные свойства.

## Библиографический список

1. Полюдек-Фабини Р. Органический анализ / Р. Полюдек-Фабини, Т. Бейрих. — Л.: Химия. — 1981.-624 с.

- 2. Проценко, М.А. Подбор питательных сред для глубинного культивирования дереворазрушающего гриба *Daedaleopsis tricolor* (Bull.) Bondartsev et Singer / М.А. Проценко, Н.Е. Костина, Т.В. Теплякова // Биотехнология. − 2018. − Т.34., №1. − С. 45-51.
- 3. Шпигун, Л.К. Методы количественной оценки антиоксидантной активности лекарственных веществ на основе свободнорадикальных реакций / Л.К. Шпигун, Н.Н. Замятина, Я.В. Шушеначев // Биржа интеллектуальной собственности. 2011. Т.10, вып. 3. С. 35-38.
- 4. Kim, E.M. Purification, Structure Determination and Biological Activities of 20(29)-lupen-3-one from *Daedaleopsis tricolor* (Bull. ex Fr.) Bond. et Sing. / E.M. Kim, H.R. Jung, T.J. Min // Bulletin of the Korean Chemical Society. -2001. V.22., No1. P. 59-62.
- 5. Klyushova, L.S. Antioxidant Activity of New Sulphur- and Selenium-Containing Analogues of Potassium Phenosan against H2O2-Induced Cytotoxicity in Tumour Cells / L.S. Klyushova, N.V. Kandalintseva, A.Y. Grishanova // CIMB. 2022. V.44. P. 3131-3145.
- 6. Le, T.N. Anti-ultraviolet, antibacterial, and biofilm eradication activities against *Cutibacterium acnes* of melanins and melanin derivatives from *Daedaleopsis tricolor* and *Fomes fomentarius* / T.N. Le, et al. // Frontiers in Microbiol-ogy. 2024. 11 p.
- 7. Saadaoui, N. Phytochemical Profiling, Antioxidant Potential and Pro-tective Effect of Leaves Extract of Tunisian *Vitis vinifera* Autochthonous Acces-sions against Acute CCl4-Injured Hepatotoxicity in Mice / N. Saadaoui, et al. // Heliyon. 2023. V.9. 15 p.
- 8. Vladykina, V. D. *Daedaleopsis* Genus in Siberia and the Far East of Russia / V.D. Vladykina, V.A. Mukhin, S.M. Badalyan // Information Technology in Biodiversity Research: материалы III Russian National Conference, ноябрь 2020 г., Екатеренбург. Екатеренбург, 2020. С. 17-26.
- 9. Yaoita, Y. Terpenoids and Sterols from Some Japanese Mushrooms / Y. Yaoita, M. Kikuchi, K. Machida // Natural Product Communications. − 2014. − V.9., №3. − P. 419-426.
- 10. Zhao, J.Y. Sesquiterpenoids and an ergosterol from cultures of the fungus *Daedaleopsis tricolor* / J.Y. Zhao, et al. // Natural Products and Bio-prospecting. 2013. V.3. P. 271-276.