

БИОКОНВЕРСИЯ РАСТИТЕЛЬНЫХ СУБСТРАТОВ ГРИБОМ *HERICIUM ERINACEUS*

П. В. Князева, М. А. Смирнов, О. О. Мамаева, Е. В. Исаева, В. С. Федоров
Сибирский государственный университет науки и технологий имени академика
М. Ф. Решетнева,

Российская Федерация, 660037, г. Красноярск, просп. им. газ. «Красноярский рабочий», 31

Представлены материалы по биоконверсии субстратов на основе одубины хвойных пород грибом *Hericium erinaceus*. Был определён химический состав субстратов до и после биоконверсии.

Ключевые слова: *Hericium erinaceus*, биоконверсия, растительные субстраты, твёрдофазное культивирование, химический состав, одубина лиственницы, одубина сосны.

BIOCONVERSION OF PLANT SUBSTRATES BY THE FUNGUS *HERICIUM ERINACEUS*

P. V. Knyazeva, M. A. Smirnov, O. O. Mamaeva, E. V. Isaeva, V. S. Fedorov
Reshetnev Siberian State University of Science and Technology
31 Krasnoyarsky Rabochy Av., Krasnoyarsk, 660037, Russian Federation

Materials on the bioconversion of substrates based on coniferous wood by the fungus *Hericium erinaceus* are presented. The chemical composition of the substrates before and after bioconversion was determined.

Keywords: *Hericium erinaceus*, bioconversion, plant substrates, solid-phase cultivation, chemical composition, larch tan waste, pine tan waste.

Активно развивающаяся лесоперерабатывающая промышленность Красноярского края требует инновационного подхода к использованию растительного сырья.

Общий запас древесины Красноярского края составляет 168,1 млн га. Запасы промышленной древесины составляют 14,4 млрд. м³ (29 % от общероссийского) [1]. Главными лесобразующими породами в Красноярском крае являются ценные хвойные породы, в частности сосна и лиственница.

Общая масса древесины, которая используется в дальнейшем, составляет 75 % от общего объема ее заготовки, на долю коры приходится до 15 % [1].

Кора хвойных пород содержит большое количество экстрактивных веществ (от 14 до 30 %) [2, 3]. Тем самым является источником многих ценных веществ, из которых получают биологически активные, дубильные, красящие и прочие продукты. В качестве экстрагента для извлечения дубящих веществ наиболее перспективно применение щелочных реагентов, в частности моноэтаноламин, который позволяет извлечь из коры до 58 % экстрактивных веществ и флавоноидов [4, 5].

Одубина (твёрдый послеэкстракционный остаток коры) может быть дешевым субстратом для выращивания грибов, так как обладает низким содержанием дубильных веществ, которые могут препятствовать росту растений, микроорганизмов, имеет высокую пористость и сорбционную способность [6, 7]. Также одубина, полученная экстракцией коры 5 %-м раствором моноэтаноламина, обогащена азотом, что может благоприятно повлиять на рост грибов [8].

В настоящее время актуальным способом утилизации растительных отходов является биоконверсия. Перспективным биодеструктором может выступать базидиальный ксилотрофный гриб ежевик гребенчатый (*Hericium erinaceus*), который относится к съедобным и лекарственным грибам. Данный гриб широко применяется в народной медицине стран Дальнего

Востока [9, 10]. У *Hericium erinaceus* обнаружены метаболиты, способные стимулировать образование факторов роста нервов, оказывать цитотоксический эффект на опухолевые клетки, проявлять иммуномодулирующие свойства [11]. Данный гриб вызывает белую гниль древесины, т. е. способен утилизировать лигнин [9, 10]. В связи с этим гриб *Hericium erinaceus* может быть использован в биотехнологии в качестве биодеструктора растительных отходов с последующим получением биологически активных веществ.

Целью работы было изучение химического состава продуктов, полученных в процессе биоконверсии одубины хвойных пород грибом *Hericium erinaceus*.

Объектом исследования являлся гриб *Hericium erinaceus*, который был изолирован в чистую культуру из коммерческого плодового тела, хранится в музейной коллекции культур кафедры химической технологии древесины и биотехнологии Сибирского государственного университета науки и технологий имени академика М. Ф. Решетнева, г. Красноярск.

Одубину получали в результате выделения из коры экстрактивных веществ 5 %-м раствором моноэтаноламина [4].

В качестве субстратов использовали:

- одубину сосны обыкновенной (*Pinus sylvestris*) (размер фракций менее 1 мм) – субстрат 1;
- 2. - одубину лиственницы сибирской (*Larix sibirica*) (размер фракций менее 1 мм) – субстрат

Для осуществления процесса биоконверсии растительные субстраты увлажняли водопроводной водой до 70 %, помещали в чашки Петри и стерилизовали 30 мин под давлением $1,01 \cdot 10^5$ Па несколько раз в автоклаве ВК-75. Засев гриба осуществляли блоками диаметром 10 мм, которые были вырезаны микробиологическим пробойником из зоны роста семисуточной культуры *Hericium erinaceus*. Культивирование гриба *Hericium erinaceus* проводили при 25 °С до полного обрастания субстрата.

Химический состав субстратов до и после биоконверсии исследован по методикам, принятым в химии растительного сырья [12, 13]. В образцах определяли влажность методом высушивания, минеральные вещества – сжиганием навески растительного материала с последующим прокаливанием золы в муфельной печи. Экстрактивные вещества выделяли с помощью исчерпывающей экстракции сначала этиловым спиртом, затем водой. Определение легкогидролизуемых полисахаридов проводили путём гидролиза сырья 2 %-й соляной кислотой в течение 3 ч при кипячении, трудногидролизуемых полисахаридов – обработкой остатка 80 %-й серной кислотой при комнатной температуре в течение 2 ч и последующем кипячении в течение 3 ч. Количество моносахаридов определяли эбулиостатическим методом. Лигниновые вещества оценивали по остатку после гидролиза полисахаридов. Убыль массы субстрата после биоконверсии определяли весовым методом по отношению к исходному субстрату до биодеструкции.

В процессе культивирования *Hericium erinaceus* оценивали диаметр, плотность колонии и высоту мицелия [14]. Продолжительность культивирования составила 12 сут.

Установлено, что ростовой коэффициент при культивировании гриба *Hericium erinaceus* на одубине сосны (субстрат 1) составил $60,3 \pm 6,0$, на одубине лиственницы (субстрат 2) – $80,6 \pm 5,7$. Таким образом, можно сделать вывод, что *Hericium erinaceus* относится к колониям базидиальных грибов, растущих со средней скоростью (т. к. ростовой коэффициент находится в диапазоне от 50 до 100) [14]. Следует отметить, что средняя радиальная скорость роста на субстрате 1 составляет $(3,2 \pm 0,3)$ мм/сут; на субстрате 2 – $(3,4 \pm 0,2)$ мм/сут.

Компонентный состав субстратов до и после культивирования представлен в таблице 1.

Для сравнения химического состава биодеструктированного субстрата с исходным производили пересчет полученных данных с учетом коэффициента убыли массы в процессе культивирования гриба *Hericium erinaceus*.

Установлено, что при твердофазной ферментации одубины коры лиственницы и сосны дереворазрушающая активность гриба примерно одинакова. Убыль массы на 12-е сутки после культивирования на одубине сосны обыкновенной составила $(2,28 \pm 0,21)$ %, на одубине лиственницы сибирской – $(2,45 \pm 1,12)$ %.

Таблица 1

Компонентный состав субстратов до и после культивирования *Hericium erinaceus*

Компонент	Содержание, % от абсолютно сухого сырья			
	субстрат 1		субстрат 2	
	исходный	после биоконверсии	исходный [15]	после биоконверсии
Минеральные вещества	$1,29 \pm 0,07$	$\frac{2,48 \pm 0,04}{2,43 \pm 0,04}$	$4,02 \pm 0,14$	$\frac{3,68 \pm 0,43}{3,57 \pm 0,42}$
Вещества, экстрагируемые горячей водой	$2,52 \pm 0,13$	$\frac{5,61 \pm 0,66}{5,5 \pm 0,65}$	$4,54 \pm 0,27$	$\frac{2,76 \pm 0,36}{2,68 \pm 0,35}$
Вещества, экстрагируемые этиловым спиртом	$6,35 \pm 0,32$	$\frac{6,84 \pm 0,81}{6,7 \pm 0,79}$	$4,65 \pm 0,16$	$\frac{6,14 \pm 0,66}{5,96 \pm 0,64}$
Легкогидролизуемые полисахариды	$18,10 \pm 0,15$	$\frac{9,20 \pm 0,46}{9,02 \pm 0,45}$	$12,85 \pm 0,38$	$\frac{7,65 \pm 0,38}{7,42 \pm 0,37}$
Трудногидролизуемые полисахариды	$38,99 \pm 0,67$	$\frac{32,86 \pm 1,64}{32,20 \pm 1,61}$	$25,61 \pm 0,87$	$\frac{27,26 \pm 1,36}{26,44 \pm 1,32}$
Лигниновые вещества	$31,98 \pm 0,36$	$\frac{29,8 \pm 1,49}{29,20 \pm 1,46}$	$34,47 \pm 0,08$	$\frac{37,8 \pm 1,89}{36,67 \pm 1,83}$

Примечание. В числителе данные без учета убыли массы, в знаменателе указаны данные с учетом убыли массы.

Изучение химического состава субстратов до культивирования показало, что в субстрате 1 доля веществ лигноуглеводного комплекса составляет 89 %, в субстрате 2 – 73 %. Содержание полисахаридов в одубине сосны в 1,5 раза выше, чем в одубине лиственницы. На долю экстрактивных веществ приходится до 9 %, причем в одубине лиственницы доля водорастворимых веществ примерно в 2 раза выше. Исходя из полученных результатов можно сделать вывод, что такие субстраты имеют благоприятный химический состав для переработки их с помощью гриба-биодеструктора *Hericium erinaceus*.

Результаты исследования химического состава субстратов после биоконверсии грибом *Hericium erinaceus* показывают изменения в содержании всех компонентов. На одубине коры сосны (субстрат 1) за счет наличия ферментов целлюлотитического комплекса гриб эффективно разрушал полисахаридный комплекс. Общее количество полисахаридов уменьшилось на 28 % по сравнению с исходным субстратом. В процессе культивирования содержание целлюлозы снизилось на 19,5 %, а гемицеллюлоз на 50 %. Биоконверсия субстрата сопровождалась увеличением в 2,2 раза количества водорастворимых веществ, что может быть связано с разрушением легкодоступных полисахаридов до моно- и олигосахаридов, которые переходят в группу веществ, экстрагируемых водой [16]. На субстрате 1 отмечена также лигнолитическая активность ежевика гребенчатого, поскольку в процессе биодеструкции субстрата содержание лигнина снизилось на 9 %.

На одубине лиственницы (субстрат 2) ежевик развивался в основном за счет утилизации легкогидролизуемых полисахаридов, к числу которых относятся гемицеллюлозы, пектиновые вещества и другие углеводы [17], а также водоэкстрактивных веществ. Установлено, что в процессе культивирования содержание водорастворимых компонентов снизилось на 41 %. В процессе биодеструкции сумма полисахаридов уменьшилась на 12 % в большей степени за счет ферментолита легкогидролизуемых полисахаридов. Степень их конверсии составила 42 % по отношению к исходным субстрату. На одубине лиственницы лигнолитической активности гриб не проявлял, что привело к незначительному увеличению лигниновых веществ.

Таким образом, проведенное исследование показало, что в процессе биоконверсии субстратов на основе твердого остатка коры после выделения экстрактивных веществ 5 %-м раствором моноэтаноламина гриб *Hericium erinaceus* утилизирует в основном полисахариды (субстрат 2 – 12 % и субстрат 1 – 28 %).

Хотелось бы отметить, что на характер и степень деструкции влияет породный состав, так на одубине лиственницы происходит наиболее полная утилизация экстрактивных веществ (до 6 %, за счет водоекстрактивной части), а на одубине сосны – лигноуглеводного комплекса (до 21 %, за счет легкогидролизуемых полисахаридов). В связи с этим данные растительные отходы могут быть использованы для биоконверсии грибом *Hericium erinaceus* с последующим получением биологически активных веществ.

Библиографический список

1. Морозов В.И., Петрушева Н.А. Использование потенциальных ресурсов древесной зелени хвойных пород лесов Красноярского края // Тенденции развития науки и образования. 2019. Вып. 50(2). С. 38–41.
2. Фёдоров В.С., Рязанова Т.В., Ерёменко О.Н. Переработка коры хвойных с получением дубильных экстрактов // Кожа и мех в XXI веке: технология, качество, экология, образование: материалы XVII Междунар.науч.-практ. конф. (11-13 декабря 2021, Улан-Удэ) / Восточно-Сибирский государственный университет технологий и управления. Улан-Удэ, 2022. С. 27-34.
3. Fedorov V.S., Ryazanova T.V. Bark of Siberian Conifers: Composition, Use, and Processing to Extract Tannin. Forests, 2021. 12. С. 1043. <https://doi.org/10.3390/f12081043>.
4. Ябров В.И., Рязанова Т.В. Экстракция коры лиственницы моноэтаноламином // Молодые ученые в решении актуальных проблем науки: сб. статей Всерос. науч.-практ. конф. студентов, аспирантов и молодых ученых (19 мая 2017, г. Красноярск) / Сиб. гос. ун-т науки и техн. им. академ. М. Ф. Решетнева. Красноярск, 2017. С. 207-209.
5. Пермьякова Г.В., Лоскутов С.Р., Семенович А.В. Экстракция коры хвойных водой с добавлением моноэтаноламина. Химия растительного сырья, 2008. № 1. С. 37-40.
6. Яковлева О. Е. Биодеструкция одубины хвойных пород грибами классов базидиомицетов и аскомицетов // Молодые ученые в решении актуальных проблем науки: сб. статей Всерос. науч.-практ. конф. студентов, аспирантов и молодых ученых (19-20 мая 2016, г. Красноярск) / Сиб. гос. ун-т науки и техн. им. академ. М. Ф. Решетнева. Красноярск, 2016. С. 40-41.
7. Махова Е.Г., Рязанова Т.В., Чупрова Н.А. Биодеструкция лиственничной одубины грибами *Trichoderma asperellum*, *Trichoderma koningi* // Химия растительного сырья. 2001. №4. С. 69-72.
8. Федоров В. С., Рязанова Т.В., Мамаева О. О. и др. Влияние предварительной обработки на компонентный состав коры хвойных пород // Актуальные вопросы химической технологии и защиты окружающей среды : сб. материалов IX Всерос. конф., посвященной 55-летию Чувашского государственного университета имени И.Н. Ульянова (01-02 декабря 2022, г. Чебоксары) Чувашский государственный университет имени И.Н. Ульянова. Чебоксары, 2022. С. 34-35.
9. Широких А.А., Злобина Ю.А., Широких И.Г. Биодegradация растительных отходов и получение плодовых тел при культивировании ежевика гребенчатого (*Hericium erinaceus*) // Теоретическая и прикладная экология. 2018. Т. №3. С. 86-92.
10. Голышкин А. В., Альмяшева Н. Р., Краснопольская Л. М. Компонентный состав базидиом ежевика гребенчатого и их антиоксидантные свойства в зависимости от предобработки опилок сосны и бука // Лесоведение. 2021. Т. № 2. С. 7-11.
11. Автономова А.В., Баканов А.В., Шуктуева М.И. и др. Погружённое культивирование и химический состав мицелия *Hericium Erinaceus*// Антибиотики и химиотерапия. 2012. Т. № 57. С. 187-194.
12. Рязанова Т.В., Чупрова Н.А., Исаева Е.В. Химия древесины. Часть 1. Строение и свойства древесины. Экстрактивные вещества: учебное пособие. СибГТУ. Красноярск, 2011. 160 с
13. Рязанова, Т.В. Чупрова Н.А., Исаева Е.В. Химия древесины. Часть 2. Основные компоненты древесины: учебное пособие для студентов вузов. СибГТУ. Красноярск, 2011. 229 с.
14. Литовка, Ю. А., Громовых Т. И. Биоконверсия растительного сырья: лабораторный практикум / Красноярск: СибГТУ, 2005. 100 с.
15. Федоров В. С., Рязанова Т. В., Мамаева О. О. и др. Комплексная переработка коры лиственницы сибирской с использованием моноэтаноламина. Сообщение 1. Получение и использование дубильного экстракта // Хвойные бореальной зоны. 2024. Т. XLII, № 2. С. 80–87.
16. Лунева Т.А., Ким Н. Ю., Рязанова Т.В. и др. Влияние грибов рода *Trichoderma* на углеводный комплекс коры лиственницы сибирской // Известие высших учебных заведений. Серия Химия и Химическая технология. 2006. № 49. С. 88–90.
17. Исаева Е.В., Еременко О.Н., Почекутов И. С. Химия растительного сырья: учеб. пособие. – Красноярск : СибГУ им. М.Ф. Решетнева., 2018. – 90 с.