

Т.А. Круподьорова, В.Ю. Барштейн, Н.А. Бісько, Т.С. Іванова

Державна установа «Інститут харчової біотехнології та геноміки  
Національної академії наук України»  
вул. Осиповського, 2а, Київ, 04123, Україна, тел.: +38 (044) 462 72 59,  
e-mail: yemets@list.ru

## СКЛАД МІЦЕЛІАЛЬНОЇ МАСИ ТА КУЛЬТУРАЛЬНОЇ РІДИНИ *CORDYCEPS SINENSIS* (BERK.) SACC. (ASCOMYCETES)

У міцеліальній масі та культуральній рідині *Cordyceps sinensis* (Berk.) Sacc. ідентифіковано 17 амінокислот з домінуванням 3-х незамінних: лізину, лейцину, треоніну. У загальній фракції ліпідів міцеліальної маси *C. sinensis* знайдено 10 жирних кислот, а в культуральній рідині – 12. Виявлено переважання ненасичених жирних кислот у жирнокислотному складі міцеліальної маси (77,82%) та культуральної рідини (74,34%) *C. sinensis*. У міцеліальній масі та культуральній рідині *C. sinensis* встановлено наявність вітамінів B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>12</sub>, А, С, каротиноїдів та 14 хімічних елементів.

Ключові слова: *Cordyceps sinensis*, міцеліальна маса, культуральна рідина, CO<sub>2</sub>-шрот амаранта.

Унікальні властивості грибів роду *Cordyceps*, які використовують у народній медицині Китаю протягом більш ніж 1200 років як універсальний засіб для зміцнення організму та профілактики різних захворювань, викликають останнім часом все більший інтерес. Вони зустрічаються у лісах Азії, Європи та Північної Америки та є ентомопатогенними грибами, що паразитують на гусеницях метеликів [10, 14–16]. Особлива увага вчених всього світу приділена дослідженням лікувальних властивостей *Cordyceps sinensis* (Berk.) Sacc (Кордицепс китайський, «Tschukaso», «DongChongXiaCao») [10, 11, 13–15]. Сполуки (кордицепсова кислота, аденозин, кордицепін, полісахариди – D-глюкани, галактозоаміноглюкани та ін.), що входять до складу цього лікарського гриба, покращують стан імунної системи людини, мають протипухлинну, антиоксидантну, антибактеріальну, гіпотензивну, антиаритмічну дію, підвищують адаптивні можливості організму, гальмують процеси старіння та тромбоутворення, гармонізують обмінні процеси [10, 11, 13–15], а також позитивно впливають на нервову, ендокринну, статеву та дихальну системи [10, 14–16].

Питання щодо можливості використання міцеліальної маси, культуральної рідини будь-якого гриба для харчових чи лікувально-



профілактичних цілей пов'язано з комплексною оцінкою їх харчової та біологічної цінності та пошуком дешевих, екологічно чистих субстратів — відходів рослинного походження та харчової промисловості. Однак, існує дефіцит робіт, вищезначеного напрямку. Крім того, культуральна рідина лікарських грибів на вміст протеїну, амінокислот, жирних кислот, вітамінів, макро- та мікроелементів майже зовсім не досліджена.

Мета нашої роботи — проаналізувати якісний та кількісний склад міцеліальної маси та культуральної рідини лікарського гриба *Cordyceps sinensis*, вирощеного на борошні із CO<sub>2</sub>-шроту амаранту *Amaranthus caudatus* L — відході вуглекислотної екстракції.

### Матеріали та методи

Об'єктом дослідження був штам з Колекції культур шапинкових грибів (ІВК) Інституту ботаніки імені М.Г. Холодного НАН України [1]: *Cordyceps sinensis* (Berk.) Sacc. 1928.

Субстратом для поверхневого культивування *C. sinensis* був відход рослинного походження — борошно із CO<sub>2</sub>-шроту амаранту *Amaranthus caudatus* L. у кількості 60 г на 1 літр дистильованої води. Субстрат стерилізували в автоклаві у колбах об'ємом 0,25 л 30 хв. при 1 атм. Після стерилізації субстрат інокулювали гомогенізованим міцелієм (10% за об'ємом), що був вирощений попередньо на чашках Петрі з глюкозо-пептонним агаризованим середовищем. Інокульовані субстрати інкубували 14 діб у термостаті при температурі 20±2 °С.

Біомасу та культуральну рідину *C. sinensis*, одержані при вирощенні продуцента на борошні із CO<sub>2</sub>-шроту амаранту, висушували за допомогою ліофільної сушки Cryodos-50 (Іспанія).

Загальний азот у біомасі та культуральній рідині визначали за методом Кьельдаля [6]. Сирий протеїн розраховували перерахунком кількості загального азоту з використанням коефіцієнту 4,38 [9].

Визначення сирого жиру проводилося згідно з методикою М. Кейтса [3]. Встановлення жирнокислотного спектру виконано згідно з ДСТУ ISO 5508-2001 [2]. Хроматографічний аналіз жирних кислот проведено на газовому хроматографі Кристал Люкс 4000 (Росія) з полум'яно-іонізаційним детектором, на капілярній колонці SP-2560 (Supelco). Межа виявлення жирних кислот — 0,01%.

Визначення вмісту вітаміну В<sub>1</sub> ґрунтується на окисненні тіаміну в тіохромі, екстракції останнього органічним розчинником та вимірюванні інтенсивності флуоресценції [8].

Встановлення наявності вітаміну В<sub>2</sub> здійснювали з рибофлавінів'язуючим апобілком з білка курячих яєць відповідно до методики В.М. Коденцової [4].

Виявлення наявності вітаміну В<sub>12</sub> здійснювали мікробіологічним методом [5] за допомогою індикаторної культури *Escherichia coli* 113-2, яка має чутливість 0,005—5,0 мкг/мл, що дозволяє виявити дуже малі кількості вітаміну (мікрограми) у середовищі.



Визначення вітаміну А та каротиноїдів визначали колориметричним методом, заснованим на кольорових реакціях з трьоххлористою сурмою у хлороформі та трифтороцтовій кислоті [8].

Встановлення вітаміну С базувалося на редуруючих властивостях аскорбінової кислоти [6].

Наявність хімічних елементів здійснювали на мас-спектрометрі ICP-MS аналізатором Thermo Finnigan Element-2 (Німеччина) [7].

Повторність дослідів трикратна, результати експериментів оброблено методами математичної статистики з використанням Microsoft Excel.

### Результати та обговорення

Виявлено високий вміст протеїну у міцеліальній масі, і особливо, у культуральній рідині *C. sinensis* (рис. 1). Слід зазначити, що кількість отриманого протеїну у міцеліальній масі аналогічна такій, що отримана при вирощуванні *C. sinensis* на глюкозо-пептоному середовищі [16] і більша за отриману при культивуванні даного виду гриба на картопляно-глюкозному середовищі [11, 14]. Вміст протеїну у дослідженій культуральній рідині *C. sinensis* у 12 разів вищий, за результат отриманий іншими вченими [11].

Важливим компонентом клітини гриба є сирий жир, тобто сума речовин, що екстрагуються сірчистим чи петролейним етером. Було відмічено, що в процесі культивування дослідженого ентомофілу на середовищі з борошном із CO<sub>2</sub>-шроту амаранту у його міцеліальній масі та культуральній рідині міститься менша кількість (<7%) сирого жиру (рис. 1), ніж у наведених даних інших авторів [14, 16].

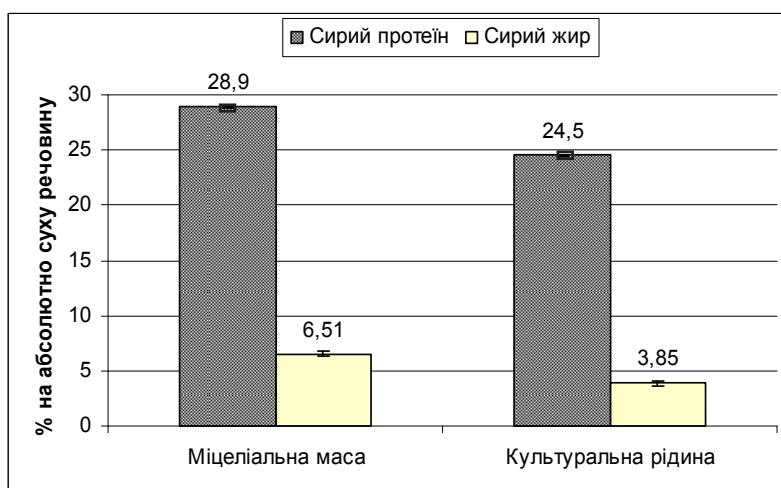


Рис. 1. Вміст сирого протеїну та сирого жиру у міцеліальній масі та культуральній рідині *C. sinensis*.

Fig. 1. Crude protein and crude fat content in mycelial biomass and culture liquid of *C. sinensis*.

Встановлено, що міцеліальна маса *C. sinensis* має такий же набір амінокислот як і культуральна рідина. Виявлено 17 амінокислот (табл. 1).

Таблиця 1  
Амінокислотний склад *C. sinensis*, % від загальної кількості

Table 1  
Content of amino acids in *C. sinensis*, % of total protein

Амінокислота	Міцеліальна маса	Культуральна рідина
Лізін	8,4±0,0	6,3±0,0
Гістидин	3,0±0,0	2,3±0,1
Аргінін	5,1±0,1	4,5±0,0
Аспарагінова кислота	6,3±0,0	9,1±0,5
Треонін	7,2±0,1	7,8±0,2
Серин	6,7±0,0	9,1±0,1
Глутамінова кислота	17,5±0,0	16,3±0,2
Пролін	7,0±0,0	4,0±0,0
Гліцин	6,6±0,0	9,3±0,1
Аланін	8,7±0,0	7,1±0,2
Цистин	1,5±0,0	1,5±0,1
Валін	3,3±0,0	3,4±0,1
Ізолейцин	3,6±0,0	3,9±0,0
Лейцин	6,5±0,0	6,5±0,1
Тирозин	3,2±0,0	4,1±0,0
Фенілаланін	3,9±0,0	3,6±0,1
Метіонін	1,5±0,0	1,2±0,0
Всього:	100	100
$\Sigma_1$ незамінних амінокислот	39,1	38,3
$\Sigma_2$ замінних амінокислот	60,9	61,7
$\Sigma_1/\Sigma_2$	0,64	0,62



16 амінокислот ідентифіковано у міцеліальній масі і 15 амінокислот у культуральній рідині при культивуванні цього виду гриба на картопляно-глюкозному середовищі [11]. В інших роботах [12, 14] міцеліальна маса *C. sinensis* мала 17 та 18 амінокислот, відповідно. Слід відзначити, що у всіх дослідженнях зберігається тенденція домінування глутамінової кислоти і кількісне коливання окремих амінокислот. Серед незамінних амінокислот нашого штаму *C. sinensis* найкраще представлені лізин, треонін, лейцин (табл. 1), що співпадає з результатами інших дослідників [12, 14]. Амінокислотний склад того чи іншого білка визначає його цінність, яку лімітує найбільш рідкісна з незамінних амінокислот. Мінорними у міцеліальній масі нашого гриба виявлено сірковмісні амінокислоти цистин та метіонін, а у культуральній рідині — лише метіонін. Ця амінокислота була також лімітуючою у інших дослідженнях [11, 14].

У загальній фракції ліпідів міцеліальної маси *C. sinensis* виявлено 10 жирних кислот, а в культуральній рідині — 12 (табл. 2).

Таблиця 2  
Склад жирних кислот гриба *C. sinensis*, % до суми жирних кислот

Table 2  
Content of fatty acids in *C. sinensis*, % of total lipids

Жирна кислота	Код жирної кислоти	Міцеліальна маса	Культуральна рідина
Мірістинова	C <sub>14:0</sub>	0,36	0,44
Пентадеканова	C <sub>15:0</sub>	1,54	0,21
Пальмітинова	C <sub>16:0</sub>	16,43	20,33
Пальмітолеїнова	C <sub>16:1</sub>	0,33	0,33
Гептадеканова	C <sub>17:0</sub>	0,46	0,75
Гептадеценова	C <sub>17:1</sub>	0,41	0,22
Стеаринова	C <sub>18:0</sub>	2,98	2,89
Олеїнова	C <sub>18:1n 9c</sub>	24,15	25,12
Лінолева	C <sub>18:2n 6c</sub>	52,26	48,63
Ліноленова	C <sub>18:3n 3c</sub>	1,08	0,26
Арахінова	C <sub>20:0</sub>	—	0,51
Бегенова	C <sub>22:0</sub>	—	0,31
Σ <sub>1</sub> насичені		22,18	25,66
Σ <sub>2</sub> ненасичені		77,82	74,34
Σ <sub>1</sub> /Σ <sub>2</sub>		3,5	2,89



Серед ненасичених кислот переважає лінолева ( $C_{18:2n\ 6c}$ ) (табл. 2). Значний також вміст олеїнової кислоти ( $C_{18:1n\ 9c}$ ), відсоток якої був майже на одному рівні у міцеліальній масі та культуральній рідині *C. sinensis*. Високий вміст олеїнової та лінолевої кислот відзначено також у іншій роботі [16]. Ненасичена пальмітолеїнова кислота найкраще була представлена у культуральній рідині *C. sinensis*. За результатами аналізу жирнокислотного складу міцеліальної маси та культуральної рідини *C. sinensis* та даних літератури [14, 16] переважають ненасичені жирні кислоти (табл. 2).

З літератури [10, 14] відомо про наявність у міцеліальній масі *C. sinensis* вітамінів групи В, Е, К. Більш якісний вітамінний профіль виявлено нами у міцеліальній масі *C. sinensis* (табл. 3). Слід також відзначити високий вміст вітаміну С та вищий рівень вітаміну  $B_{12}$  у  $CO_2$ -шроті амаранту та культуральній рідині *C. sinensis*.

Таблиця 3

Вміст вітамінів у біомасі гриба *C. sinensis* та субстраті  $CO_2$ -шрот амаранту

Table 3

Vitamins content of *C. sinensis* and substrate based on flour from the waste of *Amarantus caudatus* L. after  $CO_2$ -extraction

Вітамін	$CO_2$ -шрот амаранту	<i>C. sinensis</i>	
		Міцеліальна маса	Культуральна рідина
$B_1$ (тіамін), мг/г	0,48±0,12	0,27±0,0	0,05±0,0
$B_2$ (рибофлавін), мг/г	не знайдено	26,7±0,1	3,6±0,0
$B_{12}$ , мкг/г	0,12±0,002	0,9±0,0	0,27±0,0
А, мг/г	сліди	2,7±0,0	0,64±0,0
Каротиноїди, мг/г	сліди	29,5±0,1	2,1±0,0
С, мг/%	46,9±0,4	22,3±0,1	35,2±0,3

Як в субстраті, так і у дослідженому лікарському грибі *C. sinensis* виявлено 14 хімічних елементів (табл. 4), Міцуно [14] відзначив факт ідентифікування 20 елементів. Мінеральні речовини не мають енергетичної цінності, проте вони беруть активну участь у життєдіяльності людини, виконуючи регуляторну функцію у обміні речовин, входять до складу багатьох ферментів, є одним з основних матеріалів для побудови кісткової тканини.

Вміст більшості елементів дещо відрізняється у зразках субстрату, міцеліальної маси та культуральної рідини *C. sinensis*. У той же час кіль-

кість Ti, Cr, Mo, Bi та P знаходиться на одному рівні у всіх досліджених зразках. Найбільшу увагу привертають есенціальні мікроелементи Mn, Co, Cr, Mo, Cu, Zn, які мають важливе значення для людини. Адже дефіцит цих елементів призводить до виникнення клінічних симптомів.

Про нешкідливість досліджених нами зразків субстрату (CO<sub>2</sub>-шрот амаранту) та ентомофільного гриба свідчить відсутність небезпечних для організму людини іонів кадмію та ртуті.

Таблиця 4

Вміст хімічних елементів у субстраті, міцеліальній масі та культуральній рідині *C. sinensis*, мг/кг

Table 4

Chemical elements content in substrate, mycelium and culture broth of *C. sinensis*, mg/kg

Хімічний елемент	CO <sub>2</sub> -шрот амаранту	<i>C. sinensis</i>	
		Міцеліальна маса	Культуральна рідина
Cd	не знайдено	не знайдено	не знайдено
Pb	не знайдено	не знайдено	не знайдено
Mn	80	100	300
Co	10	1	3
Cr	2	2	3
Mo	2	<1	2
Cu	20	20	30
Zn	30	200	30
Ti	600	100	200
V	2	2	2
Bi	1	1	1
Ce	200	100	100
La	100	50	40
Ba	100	<10	<10
P	10000	10000	10000
Zr	60	50	50

Таким чином, отримані результати дослідження хімічного складу міцеліальної маси та культуральної рідини лікарського гриба *C. sinensis* дають змогу констатувати значну їх харчову та біологічну цінність. З по-



зиції безвідходної й екологічно чистої переробки вторинних матеріальних ресурсів отримані дані свідчать про ефективність використання шроту амаранту як субстрату для вирощування грибів.

Отже, наявність в складі лікарського гриба *C. sinensis* виявленого комплексу біологічно активних сполук (білків, ліпідів, вітамінів, мікроелементів) свідчить про можливість використання його міцеліальної маси та культуральної рідини для створення на їх основі харчових або дієтичних добавок, інгредієнтів функціональних продуктів.

## ЛІТЕРАТУРА

1. Бухало А.С., Митропольская Н.Ю., Михайлова О.Б. Каталог колекції культур шапинкових грибів ІБК — К. : НВК «Славутич-дельфін», 2006. — 36 с.
2. ДСТУ ISO 5508-2001. Жири та олії тваринні й рослинні. Аналізуван-ня методом газової хроматографії метилових ефірів жирних кислот (ISO 5508:1990, IDT) — [Чинний від 2003-01-01]. — К. : Держспоживстандарт України, 2003. — 14 с. (Національний стандарт України).
3. Кейтс М. Техника липидологии. — М. : Мир, 1975. — 322 с.
4. Коденцова В.М. Выделение рибофлавинсвязывающего апобелка из белка куриных яиц и его использование для определения рибофлавина в биологических образцах. // Прикладная биохимия и микробиология. — 1994. — 30, № 4–5. — С. 603–609.
5. Методы экспериментальной микологии : Справочник / [под ред. В.И. Билай]. — К. : Наукова думка, 1982. — С. 583.
6. Плешков Б.П. Практикум по биохимии растений. — М.: Колос, 1985. — 255 с.
7. Чудинов Э.Г. Атомно-эмиссионный анализ с индукционной плазмой. // Итоги науки и техники. — 1990. — 2. — С. 3–46.
8. Экспериментальная витаминология (под. ред. Ю.М. Островско-го— Минск: Наука и техника, 1979. — 549 с.
9. Crisan E.V. and Sands A. Nutritional value. In: The Biology and Cul-tivation of Edible Mushrooms. Chang ST and WA Hayes (eds.): Academic Press, New York, 1978. — P. 137–165.
10. Holiday J., Cleaver M. Medicinal value of the caterpillar fungi species of the genus Cordyceps (Fr.) Link. (Ascomycetes). A review // Int. J. Med. Mush. — 2008. — 10, № 3. — P. 219–234.
11. Hsu T.-H., Shiao L.H., Hsieh G., Chang D.-M. A comparison of the chemical composition and bioactive ingredients of the Chinese medicinal mushroom DongChongXiaCao, its counterfeit and mimic, and fermented mycelium of Cordyceps sinensis // Food chemistry. — 2002. — 78. — P. 463–469.





12. Liang C-H, Huang S-J, Tsai S-Y, Lee Yu-L, Kuo H-C et al. Preparation of novel culinary mushroom products using solid-state fermentation and their taste quality // Int. J. Med. Mush. — 2009. — 11, № 2. — P. 141–156.

13. Leung P.H., Zhao S., Ho K.P., Wu J.Y. Chemical properties and antioxidant activity of exopolysaccharides from mucelial culture of *Cordyceps sinensis* fungus Cs-HK 1 // Food chemistry. — 2009. — 114. — P. 1251–1256.

14. Mizuno T. Medicinal effect and utilization of *Cordyceps* (Fr.) Link (Ascomycetes) and *Isaria* Fr. (Mitosporic Fungi) Chinese caterpillar fungi, «Tochukaso» (review) // Int. J. Med. Mush. — 1999. — P. 251–261.

15. Russel R., Paterson M. *Cordyceps*- a traditional Chinese medicine and another fungal thepaeutic biofactory? // Phytochemistry. — 2008. — 69. — P. 1469–1495.

16. Smirnov D.A., Babitskaya V.G., Puchkova T.A. et al. Some biologically active substances from a mycelium biomass of medicinal caterpillar fungus *Cordyceps sinensis* (Berk.) Sacc. (Ascomycetes) // Int. J. Med. Mush. — 2009. — 11, № 1. — P. 69–76.

**T.A. Krupodiorova, V.Yu. Barshteyn, N.A. Bisko, T.S. Ivanova**

Institute of Food Biotechnology and Genomics, NASU, 2a, Osipovskogo str., Kyiv, 04123,  
Ukraine, tel.: +38 (044) 462 72 59,  
e-mail: yemets@list.ru

## **CONTENT OF MYCELIAL BIOMASS AND CULTURE LIQUID OF *CORDYCEPS SINENSIS* (BERK.) SACC. (ASCOMYCETES)**

### **Summary**

The myceliual biomass and culture liquid of *Cordyceps sinensis* (Berk.) Sacc. were investigated. 17 amino acids with majority of 3 essential amino acids: **lysine, leucine, threonine were determinated. Generally lipids fraction of *C. sinensis* mycelial biomass contains 10 fatty acids and in culture liquid — 12. It was found out predomination of unsaturated fatty acids in mycelial biomass (77.82%) and culture liquid (74.34%) of *C. sinensis*. Mycelial biomass and culture liquid of *C. sinensis* had vitamins B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>12</sub>, A, C, carotenoids and 14 chemical elements.**

Key words: *Cordyceps sinensis*, mycelial biomass, culture liquid, amaranthseed meal.



**Т.А. Круподерова, В.Ю. Барштейн, Н.А. Бисько, Т.С. Иванова**

Государственное учреждение «Институт пищевой биотехнологии и геномики  
Национальной академии наук Украины»,  
ул. Осиповского, 2а, Киев, 04123, Украина, тел.: +38 (044) 462 72 59,  
e-mail: yemets@list.ru

## **СОСТАВ МИЦЕЛИАЛЬНОЙ МАССЫ И КУЛЬТУРАЛЬНОЙ ЖИДКОСТИ *CORDYCEPS SINENSIS* (BERK.) SACC. (ASCOMYCETES)**

### **Реферат**

В мицелиальной массе и культуральной жидкости *Cordyceps sinensis* (Berk.) Sacc. идентифицированы 17 аминокислот с доминированием 3-х незаменимых: лизина, лейцина, треонина. Общая фракция липидов мицелиальной массы *C. sinensis* содержит 10 жирных кислот, а в культуральной жидкости — 12. Выявлено преобладание ненасыщенных жирных кислот в жирнокислотном составе мицелиальной массы (77,82%) и культуральной жидкости (74,34%) *C. sinensis*. В мицелиальной массе и культуральной жидкости *C. sinensis* установлено наличие витаминов В<sub>1</sub>, В<sub>2</sub>, В<sub>12</sub>, А, С, каротиноидов и 14 химических элементов.

Ключевые слова: *Cordyceps sinensis*, мицелиальная масса, культуральная жидкость, СО<sub>2</sub>-шрот амаранта.

