

УДК 582.28

ГИДРАТАЦИОННЫЕ СВОЙСТВА МИЦЕЛИЯ ГРИБОВ И СОДЕРЖАНИЕ β -ГЛЮКАНА

© 2013 г. М. В. Киянко*, Р. С. Канел**, В. Людеманн**, Г. Позе**, Дж. Р. Вагнер**

*Национальный университет Кильмес, Буэнос-Айрес, 1876, Аргентина

**Национальный научно-исследовательский совет, Буэнос-Айрес, 1033, Аргентина

e-mail: vkyanko@gmail.com

Поступила в редакцию 14.02.2012 г.

Выделены и идентифицированы мицелиальные грибы из различных источников для исследования свойств пищевых волокон мицелия и содержания β -глюкана. Изучена способность мицелия к поглощению и удерживанию воды. Содержание пищевых волокон в грибах варьировало в пределах 16–53%, самые высокие значения были получены для родов *Paecilomyces* и *Penicillium*, что соответствовало более высокому содержанию в них β -глюкана (24 и 17% соответственно). Эти показатели значительно выше ранее опубликованных для базидиомицетов и дрожжей. Мицелий грибов с высокой водоудерживающей способностью обладал также и большей способностью к поглощению воды. Мицелий *Paecilomyces variotii* и *Penicillium nalgiovense* обладали лучшими гидратационными свойствами, высушенный мицелий в значительной степени терял способность к удерживанию воды (на 75%). Полученные результаты вносят вклад в исследование новых нетрадиционных ингредиентов с высоким содержанием белка и β -глюкана. Использование высушенного мицелия в качестве таких добавок может изменять водоудерживающие свойства пищевых систем.

DOI: 10.7868/S055510991301008X

Грибы были частью рациона человека на протяжении тысяч лет, в том числе в составе ферментированных продуктов, получаемых с помощью дрожжей, которые используются в хлебопечении, а также при производстве различных напитков. Другие известные продукты, приготовленные с помощью мицелиальных грибов, — это синие и белые сыры, колбасы, темпе и мисо [1, 2].

Недостаток животного белка вызвал интерес к поиску подходящих микробных источников для замены обычных пищевых белков [3]. Микробные белки по своим питательным свойствам успешно конкурируют с животными. Существует множество работ по использованию одноклеточных грибов в качестве пищевых добавок, но недостаточно по использованию мицелиальных грибов для этой цели [4]. Грибы могут применяться как пищевые добавки, поскольку практически не содержат холестерин, имеют высокое содержание белка, в состав которого входят все незаменимые аминокислоты [5]. Однако в настоящее время существует большое количество источников растительного белка, представленных в изобилии на рынке по конкурентным ценам, поэтому микробные продукты питания в 21 веке не могут претендовать на рыночный успех на основании только высокого содержания этого компонента. Такие продукты должны иметь дополнительные качества, например пробиотические или быть техно-

логически более доступными, обладать особыми реологическими свойствами. Примером может служить микобелок Quorn, полученный из *Fusarium venenatum*. Этот единственный продукт, содержащий грибной белок, в котором волокна делают конечный продукт похожим на мясо или рыбу, что является преимуществом по сравнению с соевым белком и часто рассматривается как “замена мяса”. В настоящее время его продажи в Европе растут, продукт также распространяется и в США [6, 7]. С другой стороны, съедобные грибы являются потенциальным источником пищевых волокон, так как в состав грибных клеточных стенок входят хитин и другие гемицеллюлозы, маннаны, и β -глюкан. Последние привлекают особое внимание, так как обладают биологически активными и лекарственными свойствами, такими как: иммуностимулирующие, противовоспалительные, антибактериальные, противовирусные, противоопухолевые, радиозащитные и ранозаживляющие, а также способностью снижать уровень холестерина [8, 9]. В работе Манзи [10] были исследованы разные виды грибов и обнаружены значительные колебания в содержании β -глюкана (от 0.22 до 0.53 г/100 г сухого вещества). Следует отметить, что в настоящее время мало сведений о содержании этого компонента в мицелии различных грибов.

Благодаря структуре мицелия и высокому содержанию белков и полисахаридов [7, 11], грибы

можно использовать в пищевой промышленности в качестве ингредиентов пищи, которые обладают такими функциональными свойствами, как способность к водопоглощению и влагоудерживанию.

Водопоглощающая способность (ВПС) характеризуется способностью материала поглощать воду при контакте с увлажненной поверхностью. Водоудерживающая способность (ВУС) характеризует способность увлажненного материала удерживать воду при воздействии приложенной внешней силы, например, центробежной, силы тяжести или сжатия. Показатели ВПС и ВУС весьма важны для характеристики компонентов пищи [12].

Цель работы – выделение и идентификация мицелиальных грибов из различных источников для изучения содержания пищевых волокон и β -глюкана, а также исследование ВПС и ВУС мицелия.

МЕТОДИКА

Нетоксичные гиалиновые грибы (37 штаммов) были выделены из злаков и овощей и идентифицированы в соответствии с определителями Самсома с соавт. [13] и Питта и Хокинга [14]. Токсичность грибов была протестирована по методике с *Artemia salina* [15]. В качестве положительного контроля токсичности были использованы *Fusarium graminearum* NRRL 22198, а в качестве отрицательного – *F. graminearum* 3/4 NRRL 26139 (Quorn™). Эти контрольные штаммы были любезно предоставлены Керри О'Доннелл (США, Министерство сельского хозяйства США).

Изолированные штаммы грибов принадлежали к родам *Paecilomyces* [5], *Fusarium* [8], *Mucor* [6], *Absidia* [3], *Rhizopus* [3], *Trichoderma* [3], *Aspergillus* [3] and *Penicillium* [7]. Культуры выращивали в жидкой среде, содержащей 20 г/л дрожжевого экстракта и 40 г/л сахарозы, при 25°C и скорости перемешивания 135 об./мин в течение 7 сут после инокуляции от 1×10^5 конидий/мл.

Образцы мицелия собирали на вакуумном фильтре, используя фильтр № 1 фирмы “Watman” (Англия), дважды промывали дистиллированной водой, сушили при температуре 50°C в печи с циркулирующим потоком воздуха до достижения образцами постоянной массы, после чего измельчали и просеивали через сита размером 0.5 мм. Высушенный мицелий анализировали на содержание белка [16], общее содержание клетчатки (ОСК) [17, 18], РНК [19] и содержание β -глюкана.

ОСК определяли методом АОАС, с использованием коммерческого набора Megazim ТМ (Ирландия). АОАС – ферментативно-гравиметрический метод включал несколько этапов: порцию сухих мицелиальных грибов (1 г сухого вещества)

подвергали воздействию 2 амилаз: термостабильной α -амилазы (Megazim cat. № E-BLAAM, 10000 Е/мл по растворимому крахмалу) в течение 15 мин на кипящей водяной бане, затем амилогликозидазы (Megazim cat. № E-AMGDF, 3300 Е/мл по растворимому крахмалу) 30 мин при 60°C для удаления гликогена и очищенной протеиназы (Megazim cat. № E-BSPRT, 350 Е/мл по тирозину) в течение 30 мин при 60°C для растворения белков. После осаждения этанолом нерастворимый осадок был отфильтрован, высушен и взвешен.

Для определения β -глюкана использовали коммерческий набор Megazim ТМ (Ирландия). Высушенный мицелий растворяли в 10 н. соляной кислоте, затем гидролизовали 1.3 н. HCl при 100°C в течение 2 ч. На следующем этапе проводили ферментативный гидролиз: смесь инкубировали с 0.1 мл высокоочищенной экзо-1,3- β -глюканазы (20.0 Е/мл) и β -глюкозидазой (4.0 Е/мл) при 40°C в течение 60 мин. Образовавшееся количество D-глюкозы измеряли при 510 нм по методу, описанному в работе [20].

Были также определены ВПС и ВУС. ВПС измеряли в расчете на сухой мицелий, ВУС на увлажненный мицелий (до сушки) и на сухой. Для определения ВУС 100 мг образца гомогенизировали в 9 мл воды на орбитальном шейкере 2 ч при 100 об./мин, после чего центрифугировали 30 мин (на 800 г), полученный осадок взвешивали. Кинетика водопоглощения была измерена с использованием оборудования Бауманн для 50 мг образца [21]. Измеряли максимальное количество поглощенной воды (ВПС) и необходимое для этого время. ВПС и ВУС выражали в г воды/г сухого вещества. Одновременно анализировали также образцы сухой нежирной говядины, *Agaricus bisporus* и коммерческого соевого белка (высушенный при температуре 50°C до постоянной массы) в качестве контроля. Образцы были высушены, как описано выше.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В таблице приведены основные изученные компоненты мицелиальных грибов. Содержание белка в пределах 30–47% было самым высоким у представителей рода *Rhizopus*, хотя значительная внутривидовая изменчивость наблюдалась во всех родах. Содержание РНК было в пределах 3.6–6.2%, что согласовывалось со значениями (2.5–6.0%), полученными ранее для грибов [4].

Величина ОСК варьировала в пределах 16.3–53.3%, что также согласовывалось с ранее опубликованными данными для съедобных грибов и дрожжей [22–25]. Наиболее высокие значения были получены для мицелия *Paecilomyces* и *Penicillium*, что коррелирует также с более высоким содержанием в них β -глюкана – 23.8 и 17.0% со-

Основные компоненты грибов различных родов

Грибы	Состав, % г/г			
	белок	ОСК *	β -глюкан	РНК
<i>Absidia corymbifera</i> [3]	36.0 \pm 7.0	23.9 \pm 3.7	0.7 \pm 0.6	4.8 \pm 0.1
<i>Mucor hiemalis</i> [3]				
<i>Mucor circinelloides</i> [2]	40.6 \pm 3.1	24.5 \pm 4.3	1.9 \pm 1.8	6.1 \pm 0.7
<i>Mucor racemosus</i> [1]				
<i>Rhizopus oryzae</i> [3]	47.5 \pm 8.2	16.3 \pm 5.3	0.9 \pm 0.3	3.7 \pm 0.2
<i>Fusarium graminearum</i> [1]	37.7 \pm 8.3	34.0 \pm 11.4	6.0 \pm 1.3	4.6 \pm 1.5
<i>Fusarium</i> sp. [7]				
<i>Aspergillus candidus</i> [3]	36.0 \pm 2.4	35.9 \pm 0.1	3.4 \pm 1.2	4.5 \pm 0.2
<i>Trichoderma harzianum</i> [3]	44.5 \pm 2.1	27.2 \pm 6.8	6.2 \pm 0.8	6.2 \pm 0.2
<i>Paecilomyces lilacinus</i> [1]	29.9 \pm 5.7	51.7 \pm 5.5	23.8 \pm 2.4	3.6 \pm 0.5
<i>Paecilomyces variotii</i> [4]				
<i>Penicillium nalgiovense</i> [7]	31.0 \pm 3.8	53.3 \pm 5.2	17.0 \pm 3.5	3.8 \pm 0.6

* ОСК — общее содержание клетчатки.

ответственно. Эти значения, по крайней мере, в три раза выше, по сравнению с содержанием β -глюкана у остальных изученных родов. Кроме того, оно выше сообщавшихся ранее для базидиомицетов и дрожжей [10, 26–28]. В нашем исследовании β -глюкан составлял 46 и 32% от ОСК для *Paecilomyces* и *Penicillium* соответственно. В работе [29] было показано, что у коммерческих видов грибов (*Boletus group*, *Agrocybe aegerita* и *Pleurotus eryngii*), содержание β -глюкана составляет от 2 до 13% от ОСК.

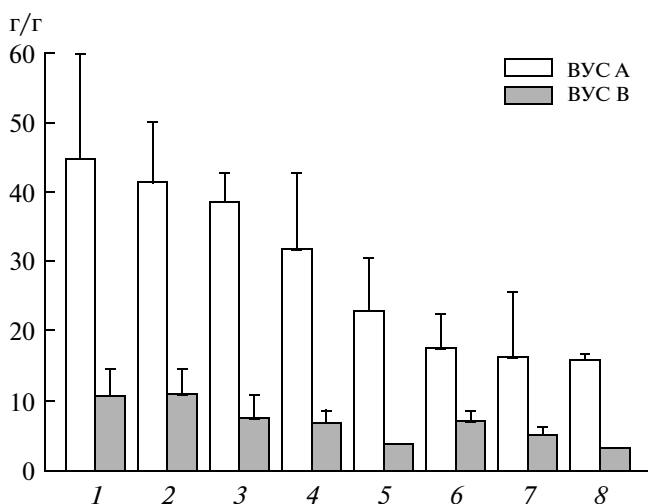


Рис. 1. Способность к удерживанию воды мокрого (ВУС А) и сухого (ВУС В) мицелия разных видов мицелиальных грибов. 1 – *Penicillium nalgiovense*, 2 – *Paecilomyces lilacinus* и *P. variotii*, 3 – *Aspergillus candidus*, 4 – *Fusarium graminearum* и *Fusarium* sp., 5 – *Trichoderma harzianum*, 6 – *Mucor hiemalis*, *M. racemosus* и *M. circinelloides*, 7 – *Rhizopus oryzae*, 8 – *Absidia corymbifera*.

В другой работе [26] было обнаружено, что у дрожжей эта величина составляла 22%. Таким образом, мицелиальные грибы *Penicillium* и *Paecilomyces* могут быть использованы в качестве источника этого полисахарида.

На рис. 1 показаны значения ВУС для различных родов грибов. Самые низкие значения для влажного мицелия наблюдались у родов Zygomycetes (*Absidia*, *Mucor* и *Rhizopus*), составляя в среднем 16.5 г воды/г сухого образца, что ниже среднего значения для β -глюкана на 2.0% (таблица). Наиболее высокие значения ВУС были обнаружены для родов *Paecilomyces* и *Penicillium*, в среднем 43.2 г воды/г сухого образца, что соответствует также более высокому содержанию этого полисахарида. Самое низкое значение ВУС было обнаружено у *P. lilacinus* (данные не представлены). Показано значительное снижение значения ВУС (на 75%), в тех случаях, когда мицелий сушили, за исключением штаммов рода *Mucor*, для мицелия которых снижение было меньше, чем на 60%. Этот род вместе с *Paecilomyces*, *Penicillium* и *Aspergillus* обладал самым высоким уровнем удерживания воды мицелием в сухом состоянии (рис. 1).

Высокая скорость поглощения воды достигала максимального значения менее чем за 2 мин у 60% штаммов мицелиальных грибов (рис. 2). Важно отметить, что изоляты, принадлежащие к видам *Paecilomyces variotii*, обладали наивысшими значениями ВПС, в среднем 6 г воды/г сухого образца. Эти значения были выше, чем для сухой нежирной говядины (2.93 г воды/г сухого образца) и высушенного мицелия *Agaricus bisporus* (2.19 г воды/г сухого образца). Значение ВПС для коммерческих соевых образцов составляло

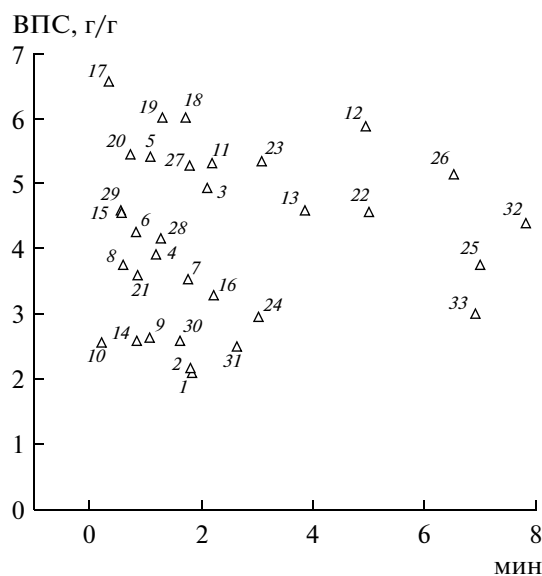


Рис. 2. Отношения между ВПС (г/г сухого образца) и временем поглощения воды (мин) у различных штаммов мицелиальных грибов. 1 – *Absidia corymbifera* T62, 2 – *A. corymbifera* T61, 3 – *Fusarium graminearum* NRRL 26139, 4 – *Fusarium* sp. 201, 5 – *Fusarium* sp. 213, 6 – *Fusarium* sp. 214, 7 – *Fusarium* sp. 235, 8 – *Fusarium* sp. 237, 9 – *Fusarium* sp. 239, 10 – *Fusarium* sp. 229, 11 – *Mucor circinelloides* G31, 12 – *M. circinelloides* G32, 13 – *M. hiemalis* A11, 14 – *M. racemosus* 250, 15 – *M. hiemalis* 307, 16 – *Paecilomyces lilacinus*, 17 – *P. variotii* 101, 18 – *P. variotii* 102, 19 – *P. variotii* 440, 20 – *P. variotii* 439, 21 – *Penicillium nalgiovense* 262, 22 – *P. nalgiovense* S1-2, 23 – *P. nalgiovense* S14-4, 24 – *P. nalgiovense* S15-1, 25 – *P. nalgiovense* S15-3, 26 – *P. nalgiovense* S16-2, 27 – *P. nalgiovense* S35-1, 28 – *Aspergillus candidus* curso, 29 – *A. candidus* 508, 30 – *Trichoderma harzianum* 464, 31 – *T. harzianum* 465, 32 – *Rhizopus oryzae* 503, 33 – *R. oryzae* 514.

8.5 г воды/г сухого образца, что согласуется с литературными данными для соевого белка [30, 31]. Несмотря на то, что эта величина превышала на 30%, полученную для штамма *P. variotii*, время достижения ВПС для мицелия последнего было в два раза меньше. Таким образом, полученные результаты показали перспективность использования мицелия этого штамма.

Важнейшими выводами работы являются следующие: 1) штаммы мицелиальных грибов с высокими показателями удерживания воды в большинстве случаев обладают и большей ВПС, 2) *P. variotii* и *Penicillium nalgiovense* обнаружили высокое содержание пищевых волокон с хорошими гидратационными свойствами; 3) выявлена связь между гидратационными свойствами мицелия и общим количеством пищевых волокон у различного родов грибов (рис. 3); 4) виды *P. variotii* and *P. nalgiovense* имеют более высокое содержание β -глюкана, по сравнению с ранее опубликованными данными для базидиомицетов и дрожжей, что является очень важным результатом, который до сих пор не был опубликован.

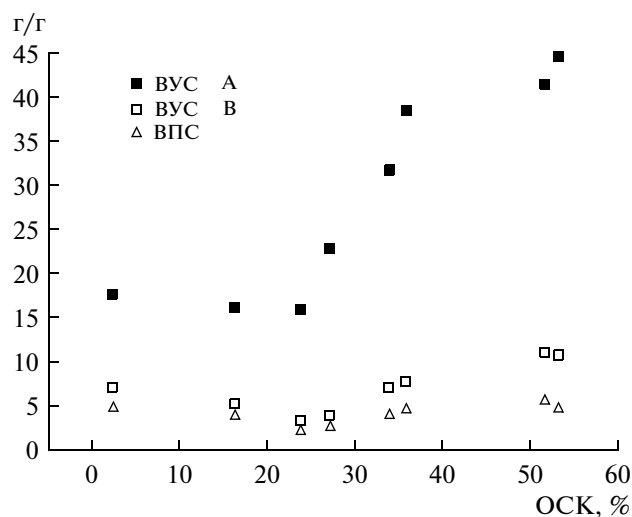


Рис. 3. Связь между гидратационными свойствами и ОСК у мицелиальных грибов. ВУС А – водоудерживающая способность влажного мицелия; ВУС В – водоудерживающая способность сухого мицелия.

Полученные результаты вносят вклад в поиск новых нетрадиционных ингредиентов питания, которые могут обеспечивать высокое содержание белка и β -глюкана. Внесение в пищу высушенного мицелия может влиять на гидратационные свойства продукта. Необходимы дальнейшие исследования для поиска универсальной пищевой матрицы, исследования ее функциональных свойств и технологических параметров.

Авторы выражают благодарность Национальному университету Кильмес, Грант (PUNQ 53/1007) и Agencia de Promoción Científica y Tecnológica, за финансовую поддержку.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Wainwright M.* Introducción a la biotecnología de los hongos. Zaragoza: Acibia S.A., 1995.
2. *Thrane U.* // Food Mycology. A Multifaceted Approach to Fungi and Food / Ed. J. Dijksterhuis and R. Samson. Utrecht: CRC Press. 2007. P. 353–360.
3. *Snyder H.E.* // Adv. Food Res. 1970. V. 18. P. 85–140.
4. *Villalobos A.* // Agronomía Mesoamericana. 2004. V. 15. № 1. P. 93–106.
5. *Moore D., Chiu S.W.* Bio-Exploitation of Filamentous Fungi / Ed. S.B. Pointing and K.D. Hyde. Hong Kong: Fungal Diversity Press, 2001. P. 223–251.
6. *Edelman J.* // J. Chem. Technol. Biotechnol. 1988. V. 43. P. 279–283.
7. *Weibe M.G.* // Appl. Microbiol. Biotechnol. 2002. V. 58. P. 421–427.
8. *Cheung P.* // J. Nutr. 1998. V. 128. № 9. P. 1512–1516.
9. *Freimund S., Sauter M., Kappeli O., Dutler H.* // Carbohydr. Polym. 2003. V. 54. № 2. P. 159–171.

10. Manzi P., Pizzoferrato L. // Food Chem. 2000. V. 68. № 3. P. 315–318.
11. Rodger G. // Food Technology. 2001. V. 55. № 7. P. 36–41.
12. Fennema O., *Química de los Alimentos*. 2 ed. Zaragoza: Acibia, 2000.
13. Samsom R.A., Hoekstra E.S., Frisvad J.C., Filtenborg O. Introduction to Food- and Airborne Fungi. 6 Ed. Baarn. Netherlands: Centraalbureau voor Schimmelcultures, 2000.
14. Pitt J.I., Hocking A.D. Fungi and Food Spoilage. 3 Ed. Dordrecht, Heidelberg, London, New York: Springer. 2009.
15. Harwing J., Scott P.M. // Appl. Microbiol. 1971. V. 21. № 6. P. 1011–1016.
16. Official Methods of Analysis. 16 Ed. Washington: Association of Official Analytical Chemists, 1996.
17. Prosky L., Asp N.-G., Schweizer T.F., DeVries J.W., Furda I. // J. Assoc. Off. Anal. Chem. 1988. V. 71. P. 1017–1023.
18. Lee S.C., Prosky L., DeVries J.W. // J. Assoc. Off. Anal. Chem. 1992. V. 75 P. 131–133.
19. Rut M. // Kvasny Prumysl. 1973. V. 19. P. 131–133.
20. Megazyme: Mixed-linkage beta-glucan Assay Procedure. Me Cleary method. 1985.
21. Torgensen H., Toledo R.T. // J. Food Sci. 1977. V. 42. № 6. P. 1615–1618.
22. Regula J., Siwulski M. // Acta Scientiarum Polonorum Technologia Alimentaria. 2007. V. 6. № 4. P. 135–142.
23. Díez V.A., Alvarez A. // Food Chem. 2001. V. 75. № 4. P. 417–422.
24. Cheung P. C.-K. // J. Sci. Food Agric. 1997. V. 73. № 2. P. 225–260.
25. Kalac P. // Food Chem. 2009. V. 113. № 1. P. 9–16.
26. Williams D.L., McNamee R.B., Jones E.L., Pretus H.A., Ensley H.E., Browder I.W., DiLuzio N.R. // Carbohydr. Res. 1991. V. 219. P. 203–213.
27. Ko Y.-T., Lin Y.-L. // J. Agric. Food Chem. 2004. V. 52. № 11. P. 3313–3318.
28. Kim K.S., Chang J.E., Yun H.S. // Enzyme Microb. Technol. 2004. V. 35. № 6–7. P. 672–677.
29. Manzi P., Marconi S., Aguzzi A., Pizzoferrato L. // Food Chem. 2004. V. 84. № 2. P. 201–206.
30. Wagner J., Añón M. // J. Food Sci. 1990. V. 55. № 3. P. 765–770.
31. Añón M., Sorgentini D., Wagner J. // J. Agric. Food Chem. 2001. V. 49. № 10. P. 4852–4858.

β-Glucan Content and Hydration Properties of Filamentous Fungi

M. V. Kyanko^a, R. S. Canel^b, V. Ludemann^b, G. Pose^b, and J. R. Wagner^b

^a National University of Quilmes, Buenos Aires, 1876 Argentina

^b National Scientific and Research Council, Buenos Aires, 1033 Argentina

e-mail: vkyanko@gmail.com

Received February 14, 2012

Abstract—The aim of this work was to isolate and identify filamentous fungi from several sources to study the dietary fiber and β-glucan content. The fungal hydration properties such as water absorption and water holding capacities were also evaluated. Total dietary fiber of isolates exhibited a noticeable variability from 16 to 53% and the highest values were obtained for the genera *Paecilomyces* and *Penicillium*, a fact consistent with a higher content of β-glucans (24 and 17%, respectively), higher than previously reported for Basidiomycetes and yeast. We observed a large decrease (75%) in the water holding capacity when the mycelia were dried. Isolates of filamentous fungi with greater water holding capacity also exhibited greater absorption capacity. *Paecilomyces variotii* and *Penicillium nalgiovense* had the best hydration properties. Our results contribute to the search for new unconventional ingredients providing a high protein and β-glucans content. The addition of these dried mycelia could change the hydration properties in the food system.