

БИОФЛАВОНОИДЫ КАК ЭФФЕКТИВНЫЕ АНТИОКСИДАНТЫ В ПРОЦЕССАХ МИКОЛОГИЧЕСКОГО РАЗРУШЕНИЯ ДРЕВЕСИНЫ

Г.Н. КОНОНОВ, проф., МГУЛ, канд. техн. наук⁽¹⁾,
А.Н. ВЕРЕВКИН, доц., МГУЛ, канд. хим. наук⁽¹⁾,
Н.Л. ГОРЯЧЕВ, асп., МГУЛ⁽¹⁾,
С.С. НИКИТИН, асп., МГУЛ⁽¹⁾

kononov@mgul.ac.ru, goryachev_nl@mail.ru

⁽¹⁾ФГБОУ ВПО «Московский государственный университет леса»
141005, Московская обл., г. Мытищи-5, ул. 1-я институтская, д. 1, МГУЛ

Древесина малоценных древесных пород иногда приобретает оригинальные окраски или специфические рисунки вследствие воздействия на нее окислительных ферментов, продуцируемых деревоокрашивающими и дереворазрушающими грибами, или природными окислителями, такими как кислород и озон. Так, например деревоокрашивающий гриб *Chlorosplenium aeruginosum* придает древесине березы интенсивно сине-зеленый цвет, грибы рода *Phellinus*, вызывающие белую гниль древесины многих пород, на ранних стадиях образуют черно-белый «мраморный» рисунок, а древесина сосны в результате воздействия внешних окислителей приобретает оранжево-красную ранневую окраску. При этом древесина практически не изменяет своих физико-механических свойств и может быть использована в качестве доступного, недорогого и очень декоративного материала для изготовления художественно-бытовых изделий, элементов мебели и предметов украшения интерьера в технике интарсии, резьбы, пьезотермического уплотнения и т. д. Однако процессы окисления компонентов древесины в дальнейшем могут привести к ухудшению ее эстетического вида и, что самое главное, к снижению ее физико-механических показателей. В данной работе предлагается стабилизировать эти показатели действием природных антиоксидантов, блокирующих окислительные процессы, катализируемые микроферментами. Дереворазрушающие грибы являются продуцентами ферментов, входящих в лигнинолитический комплекс, т. е. ферментов, участвующих в биodeградации лигнина, содержащегося в различных субстратах. В данный лигнинолитический комплекс ферментов наряду с фенолоксидазами, лигнинпероксидазами входит и пероксидаза. Пероксидаза грибов имеет ряд специфических свойств, резко отличающихся ее от пероксидаз, содержащихся в растениях. Предполагается, что у дереворазрушающих грибов функция пероксидазы заключается в разрушении лигнина путем его окисления и необходимый для этого процесса пероксид водорода образуется при окислении сахаров соответствующими оксидазами.

Ключевые слова: микологически разрушенная древесина, антиоксиданты

Древесина малоценных древесных пород иногда приобретает оригинальные окраски или специфические рисунки вследствие воздействия на нее окислительных ферментов, продуцируемых деревоокрашивающими и дереворазрушающими грибами, или природными окислителями, такими как кислород и озон [1].

Так, например деревоокрашивающий гриб *Chlorosplenium aeruginosum* придает древесине березы интенсивный сине-зеленый цвет, грибы рода *Phellinus*, вызывающие белую гниль древесины многих пород, на ранних стадиях образуют черно-белый «мраморный» рисунок, а древесина сосны в результате воздействия внешних окислителей приобретает оранжево-красную ранневую окраску. При этом древесина практически не изменяет физико-механических свойств и может быть использована в качестве доступного и недорогого и очень декоративного материала для изготовления художественно-бытовых изделий, элементов мебели и предметов украшения интерьера в технике интарсии, резьбы, пьезотермического уплотнения и т. д. [2]

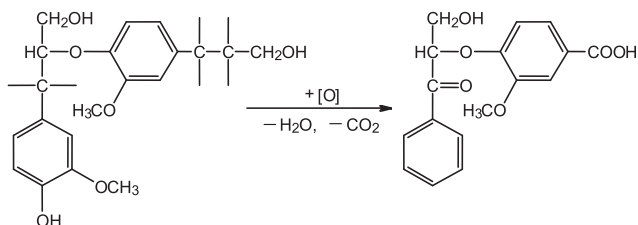
Однако процессы окисления компонентов древесины в дальнейшем могут привести к ухудшению эстетического вида и, что самое главное, к снижению ее физико-механических показателей [2, 3].

В данной работе предлагается стабилизировать эти показатели действием природных антиоксидантов, блокирующих окислительные процессы, катализируемые микроферментами.

Дереворазрушающие грибы являются продуцентами ферментов, входящих в лигнинолитический комплекс, т. е. ферментов, участвующих в биodeградации лигнина, содержащегося в различных субстратах. В данный лигнинолитический комплекс ферментов наряду с фенолоксидазами, лигнинпероксидазами входит и пероксидаза. Пероксидаза грибов имеет ряд специфических свойств, резко отличающихся ее от пероксидаз, содержащихся в растениях. Предполагается, что у дереворазрушающих грибов функция пероксидазы заключается в разрушении лигнина путем его окисления и необходимый для это-

го процесса пероксид водорода образуется при окислении сахаров соответствующими оксидазами [4, 5].

Известно, что при действии пероксидаз на лигнин происходит его окислительная фрагментация с образованием полифенольных продуктов.



Параллельно с этим идут процессы конденсации лигнина. Конденсированный лигнин, содержащий углерод–углерод дифенильные структуры, проявляет высокую устойчивость к действию ферментов, что приводит к образованию цепочек темных гранул, и это является причиной появления «мраморного» рисунка на древесине [6].

На начальном этапе была проведена работа по изучению влияния продуктов биодegradации лигнина на активность и стабильность пероксидазы, выделяемой грибами рода *Phellinus* на древесине березы.

Грибы *P. Igniarius* культивировали на измельченной древесине березы при 24°C в течение 14 суток в жидкой среде. Древесина прорастала мицелием за 10–12 суток. Затем мицелий обрабатывали 0,1М трис-HCl буфером с pH 6,0, инкубировали в течение часа при комнатной температуре для экстракции фермента. После этого пероксидазу выделяли по стандартной методике, описанной в работе [7, 8].

Было установлено, что наряду с выделением раствора пероксидазы из мицелия гриба *P. Igniarius* в раствор также переходили полифенольные пигменты из древесины. Скорость роста и накопления биомассы гриба *P. Igniarius* коррелировались с содержанием полифенольных пигментов и пероксидазы в культуральной жидкости. По-видимому, прорастание древесины мицелием дереворазрушающих грибов способствовало частичной биодegradации нерастворимого лигноуглеводного комплекса субстрата, что приводило к образованию растворимых полифенолов.

Разрушение лигноуглеводного комплекса древесины, а следовательно, и присутствие полифенольных компонентов в культуральной жидкости объясняется физиологической функцией пероксидазы. Выполнение ее предусматривает сорбцию на лигниновом субстрате и ингибирование продуктами деструкции матрицы лигнина для осуществления регуляции по типу обратной связи [9, 10]. Этот факт и наблюдается в действительности.

Присутствующие в культуральной жидкости полифенольные пигменты ингибировали активность пероксидазы. Удаление растворимых полифенолов из экстракта (хроматография и рехроматография на ДЭАЭ-целлюлозе) приводила к увеличению удельной активности фермента, что было связано с удалением ингибитора пероксидазы (таблица).

Дальнейшие исследования, проведенные методами УФ-спектроскопии в диапазоне 220–350 нм показали, что обратимость ингибирующего действия лигнинных полифенолов, адсорбированных лигнином, связана с разрушением их ароматических колец при дальнейшей окислительной деструкции под действием пероксидазы.

Исходя из результатов проведенных исследований было предложено использование в качестве антиоксидантов биофлавоноидов кверцетина и дигидрокверцетина, являющихся экстрактивными веществами древесины лиственницы сибирской, уже нашедшими широкое применение в фармацевтической и пищевой промышленности.

Т а б л и ц а
Выделение пероксидазы из гриба *P. Igniarius*
Extraction of peroxidase from *P. Igniarius* fungi

Стадия очистки	Общая активность, мкмоль/мин (субстрат ABTS)	Удельная активность, мкмоль/мин на мг белка фермента
Экстракция проросшей мицелием древесины березы	7500	1
ДЭАЭ-хроматография	9000	4
Диализ	4500	3
Рехроматография на ДЭАЭ-целлюлозе	2250	12

Предварительные эксперименты показали, что введение этих антиоксидантов в водный субстрат измельченной березовой древесины, зараженной культурой гриба *P. Igniarius* в концентрациях, не превышающих 0,02 %, приводит к резкому замедлению образования мицелия или полному прекращению его роста.

Библиографический список

1. Рабинович, М.Л. Теоретические основы биотехнологии древесных композитов. Кн. I. Древесина и разрушающие ее грибы / М.Л. Рабинович, А.В. Болобова, В.И. Кондрашенко. – М.: Наука, 2001. – 264 с.
2. Рипачек, В. Биология дереворазрушающих грибов / В. Рипачек. – М.: Лесная пром-сть. – 1967. – 276 с.
3. Уголев, Б.Н. Древесиноведение и товароведение / Б.Н. Уголев. – М.: МЛТИ. – 1986. – 366 с.
4. Исследование энзиматически разрушенной древесины / М.Я. Екабсоне, З.Н. Крейцберг, В.Н. Сергеева и др. // Химия древесины. – 1978. – № 2. – С. 61–64.
5. Ферментные системы высших базидомицетов / Н.И. Даниляк и др. – Киев: Наук. Думка, 1989. – 278 с.
6. Изменение химического состава древесины под действием лигнинразрушающих грибов / В.А. Соловьев, О.Н. Малышева, И.Л. Малева и др. // Химия древесины. – 1985. – № 6. – С. 94–100.
7. Поиск грибов – продуцентов пероксидазы / И.А. Решетникова, И.Г. Газарян, А.Н. Веревкин и др. // Микология и фитопатология. – 1992. – № 5. – С. 383–387.
8. Пероксидаза гриба *Phellinus igniarius* 71-31 / И.Г. Газарян, И.А. Решетникова, А.Н. Веревкин и др. // Доклад РАН. – 1993. – т. 329. – № 5. – С. 663–665.
9. Решетникова, И.А. Воздействие ферментного препарата пероксидазы гриба *Phellinus igniarius* на лигноуглеводный комплекс березовой древесины / И.А. Решетникова, В.В. Елкин, И.Г. Газарян // Приклад. Биохим. Микробиол. – 1995. – Т.31. – № 2. – С. 204–206.
10. Kolattukudy, P.E. The biochemistry of plants // New York: Acad. Press – 1987. – Vol. 9, P. 291–314.

BIOFLAVONOID AS AN EFFECTIVE ANTIOXIDANT IN THE PROCESSES OF MYCOLOGIC WOOD DESTRUCTION

Kononov G.N., Prof. MGUL, Ph.D. (Tech.), ⁽¹⁾; Vervovkin A.N., Ph.D., Assoc. Prof. MGUL⁽¹⁾; Goryachev N.L., pg. MGUL⁽¹⁾; Nikitin S.S., pg. MGUL⁽¹⁾;

kononov@mgul.ac.ru, goryachev_nl@mail.ru

⁽¹⁾Moscow State Forest University (MSFU), 1st Institutskaya street, 1, 141005, Mytischki, Moscow region, Russia

The timber of low-value trees sometimes acquires original color or specific patterns as a result of oxidative ferment effect. These ferments are produced by wood-coloring and wood-destructing fungi or by natural oxidants such as oxygen and ozone. Thus, for example, a wood-coloring mushroom *Chlorosplenium aeruginosum* gives to birch wood intensely blue-green color, the *Phellinus* fungi, which causes the white rot of wood, forms a black-and-white «marble» pattern at the early stages, and pine wood as a result of external oxidant influence acquires orange-red color. At the same time, the wood does not really change its physical and mechanical characteristics and still can be used as an accessible and inexpensive decorative material for the production of artistic and household goods, pieces of furniture and interior decorations in the intarsia technique, carving, piezo-thermal consolidation, etc. However, in future, the oxidation of wood components can lead to the deterioration of its aesthetic appearance, and, which is even more important, it can degrade its physical and mechanical characteristics. In this paper we propose to stabilize these parameters by means of action of natural antioxidants which block oxidative processes catalyzed by myco-ferments. Wood-destroying fungi are ferment producers, which belong to the ligninolytic complex, e.g. ferments involved in lignin biodegradation. This ligninolytic ferment complex along with phenol oxidase also includes peroxidase. Fungi peroxidase has certain specific characteristics that greatly differ from the type of peroxidase, found in plants. It is assumed that the function of peroxidase in wood-destroying fungi consists in the destruction of lignin by its oxidation, and hydrogen peroxide, necessary for this process, is formed during the oxidation of sugar by corresponding oxidases.

Keywords: mycological destruction of wood, antioxidants

References

1. Rabinovich M.L., Bolobova A.V., Kondrashchenko V.I. *Teoreticheskie osnovy biotekhnologii drevesnykh kompozitov. Kn. I. Drevesina i razrushayushchie ee griby* [Theoretical foundations of biotechnology wood composites. The book I. Wood and destroy her mushrooms]. Moscow: Nauka, 2001, 264 p.
2. Ripachek V. *Biologiya derevorazrushayushchikh gribov* [Biologu of wood-destroying fungi]. Moscow: *Lesnaya promyshlennost'* [Forest industry], 1967, 276 p. (in Russian)
3. Ugolev B.N. *Drevesinovedenie i tovarovedenie* [Wood science and merchandising]. Moscow.: *MLTI* [MFTU], 1986, 366 p. (in Russian)
4. Ekabson M.Ya., Kreysberg Z.N., Sergeeva V.N. *Issledovanie enzimaticheski razrushennoy drevesiny* [Trials enzymatically shattered wood]. *Khimiya drevesiny* [Wood Chemistry], 1978, № 2, pp. 61–64. (in Russian)
5. Danilyak N.I. *Fermentnye sistemy vysshikh bazidomitsetov* [Enzyme systems of higher bazidomitsetov]. Kiev: Nauk. Dumka, 1989, 278 p. (in Russian)
6. Solov'ev V.A., Malysheva O.N., Maleva I.L. *Izmenenie khimicheskogo sostava drevesiny pod deystviem ligninrazrushayushchikh gribov* [Change of chemical composition of wood under the action of lignin-destroying fungi]. *Khimiya drevesiny* [Wood Chemistry], 1985, № 6, pp. 94–100.
7. Reshetnikova I.A., Gazaryan I.G., Verevkin A.N. *Poisk gribov – produtsentov peroksidazy* [Search for fungi – producers of the peroxidase]. *Mikologiya i fitopatologiya* [Mycology and Phytopathology], 1992, № 5, pp. 383–387. (in Russian)
8. Gazaryan I.G., Reshetnikova I.A., Verevkin A.N. *Peroksidaza griba Phellinus igniarius 71-31* [Peroxidase of the fungus *Phellinus igniarius* 71-31]. *Doklad RAN* [report of the Russian Academy of Sciences], 1993, B. 329, № 5, pp. 663–665. (in Russian)
9. Reshetnikova I.A., Elkin V.V., Gazaryan I.G. *Vozdeystvie fermentnogo preparata peroksidazy griba Phellinus igniarius na lignouglevodnyy kompleks berezovoy drevesiny* [Impact of peroxidase enzyme preparation mushroom *Phellinus igniarius* on lignouglevodnyh complex birch wood]. *Priklad. Biokhim. Mikrobiol.* [Applied Biochemistry and Microbiology], 1995, B. 31, № 2, pp. 204–206. (in Russian)
10. Kolattukudy, P.E. The biochemistry of plants // New York: Acad. Press – 1987. – Vol. 9, P. 291–314.