

система франчайзинга имеет ряд преимуществ, которые позволяют более эффективно организовать бизнес с меньшими затратами, что повышает конкурентоспособность отечественной экономики.

Литература

1. Лопушанський Т.В Правовий та економічний аспект розвитку франчайзингу в країнах ЄС та Україні / Лопушанський Т.В // Зовнішня торгівля: Право та Економіка. - 2007. - №4(33). - С.56-61
2. Цірат Г. В. Франчайзинг: розвиток у світі та в Україні /Г.В.Цірат// Вісник Київського університету ім.Т.Г. Шевченко.- 2002. - № 13. - С. 65-70.
3. Франчайзинг в Україні. – Режим доступа к электронному ресурсу: <http://triarh-franchising.com/>
4. Ассоциация франчайзинга.- Режим доступа к электронному ресурсу: <http://www.franchising.org.ua/>.

УДК 577.152.321

ДОСЛІДЖЕННЯ ПЕКТОЛІТИЧНОЇ АКТИВНОСТІ ДИКАРІОТИЧНИХ ТА МОНОКАРІОТИЧНИХ КУЛЬТУР ГРИБА *IRPEX LACTEUS (FR). FR.*

Семилетова О. С.

Бойко С. М.

Одним з напрямків біотехнології сьогодення є процес промислового отримання ферментів, здатних до гідролізу пектинових речовин. Препарати пектиназ широко застосовуються у харчовій, медичній промисловостях, а також інших галузях біотехнології в якості ферментів мацеруючої дії. Зростаюча потреба у препаратах пектинолітичної дії зумовлює актуальність пошуку активних продуцентів цих речовин серед об'єктів живої природи. Активно досліджується здатність нижчих грибів та бактерій до синтезу пектиназ. Однак, майже не проводиться досліджень, які б стосувалися вищих базидіальних грибів.

Ферментативний апарат базидіоміцетів – гідролітичні ферменти, які виділяються у оточуюче середовище та забезпечують первинне розкладання харчового субстрату, – налаштований на розкладання вуглеводів – будівельного матеріалу та запасних речовин рослин. Тому не тільки паразитичні гриби обрали об'єктами свого нападу здебільшого рослини, але й сапротрофні гриби живляться загиблими рослинами. Майже виключно гриби приймають участь у розкладанні мертвої деревини. Наявність набору ферментів, що руйнують основні рослинні полімери, у формі яких запасена більша частина зв'язаного вуглецю, поставила базидіоміцети, особливо дереворуйнівні, у виключне положення у харчовому ланцюгу організмів: на гриби приходиться утилізація 2/3 зв'язаного вуглецю. В цьому полягає

глобальна екологічна роль грибів [1, 2, 4].

Ферменти, що продукуються базидіоміцетами, знайшли широке застосування у народному господарстві. Наприклад, пектинази, що руйнують міжклітинний “цемент” рослинних тканин – пектин – використовують для освітлення фруктових та овочевих соків. Використання ферментів дереворуйнівних грибів дозволило створити екологічно більш чисті технології отримання целюлози та продуктів її гідролізу у лісопереробній промисловості, ніж при хімічному гідролізі [1, 4]. Грибні ферменти використовуються для руйнування найбільш стійкого біополімеру рослинного походження – лігніну, що залишається невикористаним у процесі отримання целюлози.

Зважаючи на все вищесказане, завданням нашої роботи було дослідження здатності базидіального грибу *Irpex lacteus* (Fr.) до синтезу в живильне середовище ферментів пектинолітичної дії. Метою дослідження було порівняння пектолітичної активності моноспорових культур грибу *Irpex lacteus* (Fr.) Fr., а також дослідити їх деякі фізіолого-біохімічні показники.

Об'єктами досліджень були 4 культури вищих базидіальних грибів: П-10-3, П-10-4, П-10-5 та П-10-6, які відносяться до виду *Irpex lacteus* (Fr.) Fr.

Гриб *I. lacteus* характеризується наступними ознаками [2]: плодові тіла шкірясті, простягнуто-відігнуті, до резупинантних, але також зустрічаються дрібні шапенькові сидячі форми, зазвичай черепинчасто розташовані; поверхня шапеньки мохната, більш менш концентрично бороздчаста, біла або сірувата, при старінні та висиханні набуває бурого кольору; трубочки перетворюються у неправильно лабіринтоподібні, короткі, потім довгі надрізані платівки або шипи та зубці, розподіленні нерідко послідовними рядами, білого або кремового, при засиханні іноді буровато-кремового до бурого кольору; трама шкіряста, біла, тоненька, до 0,5-2 мм товщиною. Зростає на мертвих, рідше живих стовбурах, гілках, деревині листяних, рідше хвойних порід по всій помірній зоні східної півкулі. В Україні зустрічається всюди, де є достатня вологість, на дубі, березі, буку, тополі, акації, горобині, горіху, вишні тощо. Збудник білої гнилі.

Культивування проводили на середовищі наступного складу (г/л): пектин-3; KH_2PO_4 -0,6; K_2HPO_4 -0,4; $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ -0,5; $\text{ZnSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ -0,001; CaCl_2 -0,05 [7]; протягом 15 діб. при температурі 28°C. Кислотність поживного середовища доводили до значення 4,0 за допомогою 10% NaOH на рН-метрі “рН-340”. Активність пектиназ визначали у культуральному фільтраті на 3, 6, 9, 12 та 15 доби культивування.

Активність пектолітичних ферментів визначали титруванням за методикою Кернетза.

За одиницю активності приймали таку кількість фермента, яка утворювала 1 мкМ галактуронової кислоти з молекули пектину протягом 1 хв. в умовах досліду (рН=4,0; t=26°C). Питому активність полігалактуронази визначали відношенням загальної активності до вмісту білку у культуральному фільтраті.

Вміст білку визначали спектрофотометричним методом на

спектрофотометрі СФ-26 [7].

Дослідження проводили у трикратній повторності. Результати досліджень обробляли статистично методами дисперсійного аналізу, порівняння середніх проводили методом Дункана [9].

Загальна пектинолітична активність (ПА) ферментів синтезованих у культуральному фільтраті (КФ) ізолятів П 10-3, П 10-4, П 10-5 та П 10-6 зображена на рисунку 1. Проаналізувавши рисунок слід зазначити, що максимум активності спостерігався у культур П 10-4 на 9 добу та у П 10-5 на 3 добу культивування. Зниження активності майже у всіх штамів спостерігалось на 12 добу культивування.

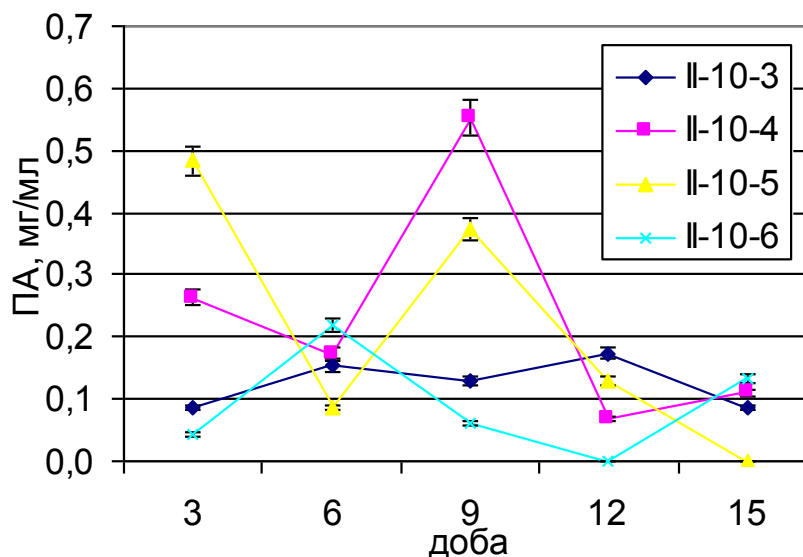


Рис. 1. Динаміка загальної активності пектолітичних ферментів у КФ культур П 10-3, П 10-4, П 10-5 та П 10-6 *I. lacteus*.

Для культури П 10-3 зафіксован максимум активності на 12 добу культивування, однак, дане значення достовірно не відрізняється від значень зафіксованих на 6 та 9 доби культивування. Зниження активності спостерігається на 3 та 15 доби експерименту, слід відзначити, що значення, зафіксовані в даний період культивування, також достовірно один від одного не відрізняються.

Макимум активності для культури П 10-4 зафіксований на 9 добу культивування та є кращім показником ПА серед дослідних об'єктів. Незначний ріст ПА спостерігався і на 3 добу культивування даної культури. На 6, 12 та 15 доби трапляється достовірне зниження активності. При цьому значення, зафіксовані на 12 та 15 доби культивування, достовірно між собою не відрізняються.

Культура П 10-5 має високе значення активності на ті ж самі доби, що і культура П 10-4. Максимум активності у культурі П 10-5 спостерігався на 3 добу культивування, подальше підвищення ПА, також як і у культурі П 10-4, відмічено на 9 добу культивування. На 6, 12 та 15 добу, спостерігалось достовірне зниження активності. Однак, слід відзначити, що значення, зафіксовані на 6 та 12 доби культивування, достовірно один від одного не

відрізняються, а на 15 добу проведення досліду активність взагалі не проявлялась.

Максимум ПА культури П 10-6 фіксуван на 6 добу культивування. Подальше збільшення ПА спостерігався на 15 добу культивування. Достовірне зниження активності спостерігалось на 3, 9 та 12 доби. Слід відзначити, що значення активності на 3 та 9 доби достовірно один від одного не відрізнялись, на 12 добу культивування активність не фіксувалась.

Питому пектинолітичну активність (ППА) позаклітинних ферментів культур П 10-3, П 10-4, П 10-5 та П 10-6 *I. lacteus* Fr зображено на рисунку 2. Проаналізувавши дані, можна сказати, що максимум активності спостерігався у культурах П 10-4 та П 10-5 на 9 добу культивування, при цьому достовірної різниці між цими двома значеннями не виявлено. Гістограма ППА всіх дослідних об'єктів має вид параболи, тобто ріст активності починається з 3 доби експерименту та достовірно збільшується, поки не досягне свого максимуму на 9 добу культивування, після чого спостерігається достовірне зниження активності на 12 та 15 доби експерименту.

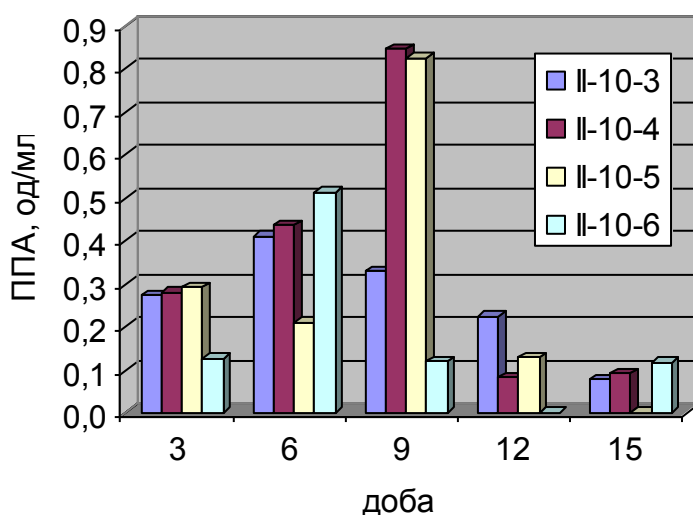


Рис. 2. Динаміка питомої активності пектолітичних ферментів у КФ культур П 10-3, П 10-4, П 10-5 та П 10-6 *I. lacteus*.

Максимум ППА для культур П 10-3 зафіксован на 6 добу культивування, а на 3, 9, 12 та 15 доби спостерігалось поступове зниження активності. Разом з тим, значення ППА, зафіксовані на 3 та 12 доби, достовірно один від одного не відрізняються. Найменша ППА відмічена на 15 добу проведення експерименту.

Проаналізувавши результати ППА культури П 10-4, слід зазначити, що максимум спостерігається на 9 добу культивування, після чого відбувається різке зниження активності на 12 та 15 доби експерименту. Слід зазначити, що данні зафіксовані в цей період культивування, достовірно один від одного не відрізняються. Що стосується активності об'єкту на 3 та 6 доби культивування, то можна відзначити поступовий ріст даного показника.

Максимум активності для культури П 10-5 зафіксован на 9 добу культивування. На 3 добу проведення досліду у культури П 10-5 відзначається збільшення ППА до середнього значення в порівнянні з активністю цієї культури на інші доби культивування. На 6 та 12 доби проведення експерименту спостерігалось достовірне зниження активності, активність ізоляту на 15 доби культивування досягла свого абсолютного мінімуму.

Найбільше значення ППА зафіксовано для культури П 10-6 на 6 добу культивування. На 3, 9 та 15 доби проведення досліду спостерігався достовірний спад активності цього ізоляту. Слід зазначити, що дані значення достовірно один від одного не відрізняються. На 12 добу культивування культури П 10-6 не виявляв активності.

В більшості випадків значення ППА дослідних об'єктів вище значення їх ПА. Це може свідчити про те, що виділяемий моноспоровими культурами гриба виду *I. lacteus* білок у КФ був високо специфічним до пектину.

Паралельно з визначенням активності пектолітичних ферментів у культуральних фільтратах культур П 10-3, П 10-4, П 10-5 та П 10-6 *I. lacteus* також фіксувалось накопичення біомаси. Результати предсталені на рисунку 3. З рисунку видно, що культури проявляли схожу між собою динаміку накопичення біомаси.

Максимум показника біомаси для культури П 10-3 фіксувався на 15 добу культивування. На 6 добу культивування зафіксовано зниження біомаси, порівняно зі значенням цього показника на 3 добу експерименту. На 9 та 12 доби зафіксований незначний ріс біомаси, але ці значення достовірно не відрізняються один від одного.

Для культури П 10-4 максимальне значення біомаси фіксувалось на 12 добу культивування. Різкий спад накопичення біомаси відмічався на 6 добу проведення експерименту. На 3, 9 та 15 доби культивування значення показника біомаси достовірно не відрізнялись один від одного.

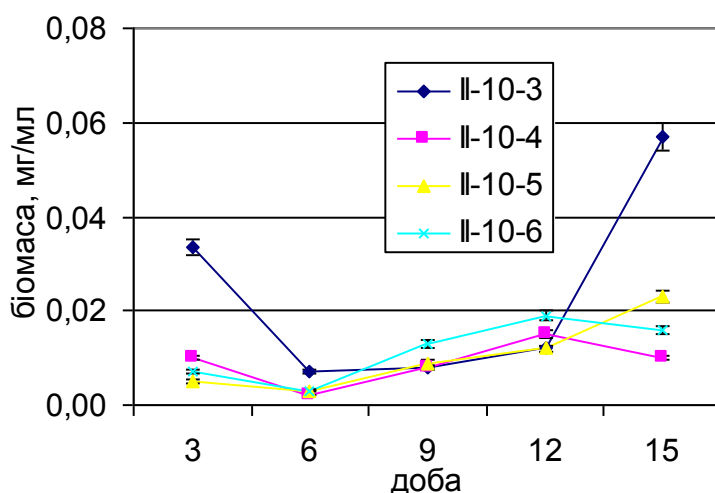


Рис. 3. Динаміка накопичення біомаси культур П 10-3, П 10-4, П 10-5 П та 10-6 *I. lacteus*.

Культура П 10-5, так само як і культура П 10-3, має найбільше значення

біомаси на 15 добу культивування. Після спаду накопичення біомаси, зафіксованого на 6 добу експерименту, спостерігалось поступове збільшення цього показника. Слід зазначити, що данні, зафіксовані на 3 та 6 доби культивування достовірно не відрізняються один від одного, так само як і значення зафіксовані на 9 та 12 доби.

Культура П 10-6 має максимальне значення біомаси на 12 добу культивування. Так само, як і у всіх інших об'єктів досліджень, на 6 добу дослідіу фіксувалось зниження накопичення біомаси. На 15 добу експерименту спостерігалось зниження накопичення біомаси, при цьому це значення достовірно не відрізняється від даних знятих на 9 добу проведення експерименту.

Протягом всього терміну досліджень також визначалась динаміка зміни кислотності культуральної рідини досліджуваними культурами порівняно з контролем. Результати представлені на рисунку 4. Встановлено, що кислотність культуральних фільтратів культур П 10-3, П 10-4, П 10-5 та П 10-6 *I. lacteus* незначно коливалась в межах 3,4-4,0 одиниць рН, що майже не відрізнялось від значення початкової кислотності поживного середовища (4,0). Для всіх досліджуваних культур значення кислотності культуральних фільтратів достовірно не відрізнялись між собою протягом всього терміну культивування. Це можна пояснити тим, що рівень кислотності оточуючого середовища на рівні 4,0 одиниць рН є сприятливим для досліджуваних культур.

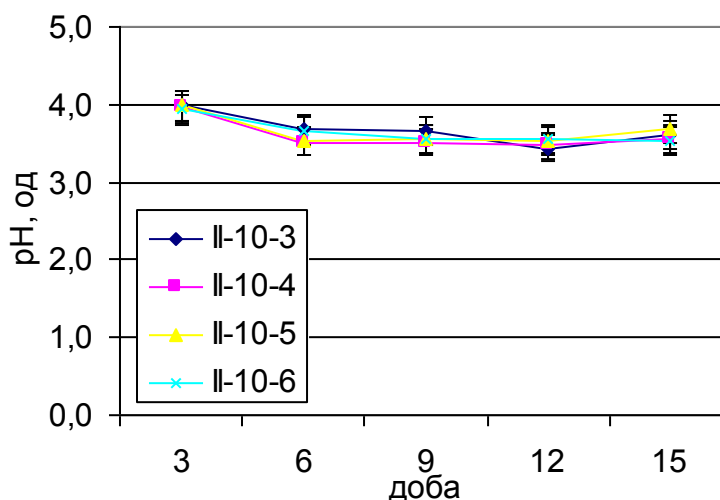


Рис. 4. Динаміка кислотності культуральних фільтратів культур П 10-3, П 10-4, П 10-5 та П 10-6 *I. lacteus*.

Таким чином, на підставі виконаної роботи можна зробити наступні висновки:

1. З досліджених культур максимальна питома пектинолітична активність спостерігається у культурі П 10-4 *Irpex lacteus* на 9 добу культивування (0,845 од/мг).

2. Значення рН середовища протягом усього періоду культивування значно не змінювалось, що може свідчити про сприятливу початкову

кислотність поживного середовища (рН 4.0).

Література

1. Бекер З.Э. Физиология грибов и их практическое использование. / З.Э. Беккер. – М.: Изд-во МГУ., 1968. – 230 с.
2. Билай В.И. Основы общей микологии. / В.И. Билай. – К.: Выща шк. Головное изд-во, 1989. – 392 с.
3. Бондарцев А. С. Трутовые грибы европейской части СССР и Кавказа. / А.С. Бондарцев. – М. – Л.: изд-во АН СССР, 1953. - 1106 с.
4. Дьяков Ю.Т. Введение в альгологию и микологию: Учеб. пособие. / Ю.Т. Дьяков. – М.: Изд-во МГУ, 2000. – 192 с.
5. Комарницкий Н. Ботаника. Систематика растений / Комарницкий Н., Кудряшов Л., Уранов А. – М.: Просвещение, 1975. – 605 с.
6. Курсанов Л.И. Микология. / Л.И. Курсанов. – М.: Государственное учебно-педагогическое издательство Наркомпресса РСФСР, 1940. – 480 с.
7. Методы экспериментальной микологии / [Дудка И.А., Вассер С.П., Элланская И.А. и др.]; под ред. В.И. Билай. – К. Наукова думка, 1982. – 550 с.
8. Негруцкий С.Ф. Микология: Биология и экология грибов. Учебное пособие. / С.Ф. Негруцкий. – Донецк: ДонГУ, 1984. – 124 с.
9. Приседський Ю.Г. Статистична обробка результатів біологічних експериментів. Навч. Посібник. / Ю.Г. Приседський – Донецьк: Кассиопея, 1999 – 210 с.
10. Alana A. Pectin Lyase Production by a *Penicillium italicum* Strain / A. Alana, Gabilondo A., Hernando F. et al. // Applied and Environmental Microbiology. – 1989. – Vol. 55, №. 6 – p. 1612-1616
11. Jenkins J. The crystal structure of pectate lyase Pel9A from *Erwinia Chrysanthemi*. / J. Jenkins, V. Shevchick, N. Hugouvieux-Cotte-Pattat // the Journal of Biological Chemistry. – 2004. – Vol. 279, №. 10. – p. 9139-9145.
12. Membre J.M. Effect of temperature, pH, and NaCl on growth and pectinolytic activity of *Pseudomonas marginalis* / J.M. Membre, P.M. Burlot // Applied and Environmental Microbiology. – 1994. – Vol. 60, №. 6 – p. 2017-2022.

УДК 332.142.4/6:502(477)

ОСОБЕННОСТИ ЭКОЛОГИЧЕСКОГО АУДИТА УКРАИНЫ

Сивокоз Д.Н.

Чижилова О.А.

На современном этапе развития рыночной экономики невозможно оставаться безразличным к экологическим проблемам. К сожалению, в наше время экологические вопросы занимают второстепенное место при осуществлении хозяйственной деятельности. Понятно, что первое место занимают проблемы максимизации прибыли. Активизация жизнедеятельности человеческого общества, стремительное развитие науки и