



**XII**

**KONGRES MIKROBIOLOGA SRBIJE**  
sa međunarodnim učešćem

**MIKROMED 2018 REGIO**

**BEOGRAD, 10-12. MAJ 2018.**

**Zbornik apstrakata / Book of Abstracts**



[www.micromedregio.com](http://www.micromedregio.com)

**ORGANIZATOR**

---

UDRUŽENJE MIKROBIOLOGA SRBIJE, Beograd

**ZBORNİK APSTRAKATA/ BOOK OF ABSTRACTS**

---

**Izdavač:** UDRUŽENJE MIKROBIOLOGA SRBIJE, Nemanjina 6, Beograd

**Za izdavača:** Dragojlo Obradović, predsednik Udruženja

**Urednici:**

Dragojlo Obradović

Lazar Ranin

**Štampa:**

Caligraft soft Kosovska 6 , 11080 Zemun, Beograd 2018.

**Tiraž:**

300 primeraka

CIP - Каталогизација у публикацији - Народна библиотека Србије, Београд

579.61(048)(0.034.2)

КОНГРЕС микробиолога Србије Микромед (12 ; 2018 ; Београд)

Zbornik apstrakata [Elektronski izvor] / XII Kongres mikrobiologa Srbije sa međunarodnim učešćem, Mikromed 2018 REGIO, Beograd, 10-12. maj 2018. = Book of Abstracts / [12th Congress of Serbian Microbiologists with International Participation MICROMED 2018 REGIO] ; [urednici Dragojlo Obradović, Lazar Ranin]. - Beograd : Udruženje mikrobiologa Srbije, 2018 (Zemun : Caligraft soft). - 1 USB fleš memorija : 1 x 2 x 4 cm

Sistemska zahtevi: Nisu navedeni. - Nasl. sa naslovne strane dokumenta. - Apstrakti na srp. i engl. jeziku. - Tiraž 300. - Bibliografija uz pojedine apstrakte.

ISBN 978-86-914897-5-5

a) Медицинска микробиологија - Апстракти COBISS.SR-ID 265049612

## BIOLOŠKI POTENCIJAL ODABRANIH VRSTA MAKROMICETA OBOGAĆENIH SELENOM

Pantić Milena

Matijašević Danka, Miletić Dunja, Sknepnek Aleksandra, Nikšić Miomir

Univerzitet u Beogradu, Poljoprivredni fakultet, Katedra za tehnološku mikrobiologiju, Beograd, Srbija

**UVOD:** Industrijski gajene gljive imaju veoma izraženu nutritivnu vrednost i predstavljaju bogat izvor esencijalnih aminokiselina, vitamina, mineralnih materija, ugljenih hidrata, proteina kao i važnih sekundarnih metabolita. Tokom višegodišnjih istraživanja dokazano je da gljiva može uspešno usvojiti selen iz čvrstog supstrata ili tečne podloge u koncentraciji koja može da zadovolji dnevne potrebe čoveka. Kapacitet usvojivosti selena zavisi od vrste gljive, hranljive podloge, ekoloških parametara kao i od oblika i koncentracije u kom je selen dodat u podlogu. Kako gljive sadrže brojne bioaktivne komponente u vidu primarnih i sekundarnih metabolita, dodatno selenom obogaćene pečurke moguće je koristiti u svežem i sušenom stanju ili kao potencijalni dijetetski suplement. Ispitana je biološka aktivnost selenom obogaćenih gljiva *Coriolus versicolor* i *Pleurotus ostreatus*. Kao izvori selena upotrebljena su organska jedinjenja u obliku selenskog kvasca i selenouree, kao i Se(IV)- i Se(VI)-modifikovani zeoliti.

**MATERIJAL I METODE:** Od dobijenih selenom obogaćenih plodonosnih tela i micelijuma pripremljeni su metanolni ili vreli vodeni polisaharidni ekstrakti, a zatim je izvršena analiza njihovih antioksidativnih i antimikrobnih svojstava. Za određivanje antioksidativnog potencijala u *in vitro* uslovima, korišćene su tri različite metode. Uzorci su poređeni na osnovu sposobnosti hvatanja slobodnih DPPH radikala, sposobnosti heliranja Fe (II) jona i redukcione sposobnosti. Antimikrobni potencijal određen je na osnovu mikrodilucione metode i zatim potvrđen primenom elektronske mikroskopije.

**REZULTATI I DISKUSIJA:** U istraživanjima su korišćeni metanolni ekstrakti dobijeni iz plodonosnog tela gljive *C. versicolor* sa sadržajem selena 93.39 i 97.85 µg/g suve mase kada je dodavana selenourea, odnosno selenski kvasac. Submerznim gajenjem gljive usvojene su znatno više koncentracije selena, 2084.00 i 1200 µg/g suve biomase pri dodatku selenskog kvasca i selenouree. Kada je selen dodat u supstrat u obliku Se(IV)- i Se(VI)-modifikovanih zeolita, njegov sadržaj u plodonosnim telima *C. versicolor* je bio oko 110.8 µg/g i 105.6 µg/g, a u *P. ostreatus* 81.2 i 59.5 µg/g računato na suhu masu uzorka. Komercijalni soj gljive *Pleurotus ostreatus* obogaćene selenom dodatkom selenskog kvasca sadržao je selen u koncentraciji 137.8 µg/g suve mase plodonosnog tela i korišćen je za ispitivanje aktivnosti vrelih polisaharidnih ekstrakata. Hemijskom karakterizacijom ekstrakata utvrđeno je da je sadržaj ukupnih ugljenih hidrata, naročito β-glukana, ukupnih proteina, flavonoida i fenola u gljivama obogaćenim selenom bio viši u odnosu na kontrolu kod većine uzoraka. Značajan procenat selena (do oko 30%) u odnosu na ukupan selen usvojen je u obliku selenometionina.

a. Antimikrobni potencijal ekstrakata

Svi ispitivani ekstrakti sa i bez povećanog sadržaja selena pokazali su jače antimikrobno delovanje na Gram pozitivne u odnosu na Gram negativne bakterije. Metanolni ekstrakti dobijeni iz gljiva obogaćenih zeolitnim selenom delovali su mikrobicidno na *Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus cereus* i *Rhodococcus equi*. Za metanolni ekstrakt izolovan iz gljive *C. versicolor*, odgajene na supstratu sa dodatkom selena u vidu Se(VI)-modifikovanog zeolita utvrđeno je baktericidno dejstvo na 15 od 19 testiranih bakterija. Metanolni ekstrakti plodonosnih tela gljive *C. versicolor* obogaćene selenouream i selenskim kvascem ispoljili su mikrobicidno dejstvo na sve testirane Gram negativne bakterije, osim na *Escherichia coli* H7:O157. Na ovu bakteriju uspešno su delovali metanolni ekstrakti dobijeni iz micelijuma gljive gajene u tečnoj podlozi obogaćenoj selenouream. SEM (skenirajuća elektronska mikroskopija) i TEM (transmisiona elektronska mikroskopija) mikrografije ćelija *Staphylococcus aureus* tretiranih metanolnim ekstraktima ukazuju da je došlo do deformisanja bakterijske ćelije, oštećenja citoplazmatične membrane i gubitka njene propustljivosti. Posledica dejstva ekstrakata na ćelije *Salmonella* Enteritidis je pucanje ćelijskog

zida i gubitak ćelijskog materijala. Baktericidna aktivnost vrelih vodenih polisaharidnih ekstrakata iz *P. ostreatus* obogaćene seleom iz kvasca bila je najizraženija protiv Gram pozitivne bakterije *S. aureus*, dok su među Gram negativnim bakterijama, najosetljivije bile *Sal. Enteritidis* i *Pseudomonas aeruginosa*.

b. Antioksidativni potencijal ekstrakata

Selenom obogaćeni ekstrakti su pokazali poboljšana antioksidativna svojstva. Utvrđeno je da se kod skoro svih ekstrakata antioksidativni potencijal povećavao sa povećanjem koncentracije. Metanolni ekstrakt plodonosnog tela gljive *C. versicolor* obogaćene selenoureom vezivao je čak 99.42 % slobodnih DPPH radikala. Sličnu efikasnost su imali i ekstrakti dobijeni iz micelijuma. Pri najvećoj testiranoj koncentraciji (2,5 mg ml<sup>-1</sup>) ekstrakti izolovani iz gljive *P. ostreatus* obogaćene SeIV- i SeVI-zeolitima vezivali su 62,5% odnosno 65,7% DPPH radikala. Ova aktivnost za gljivu *C. versicolor* iznosila je oko 92%. Sposobnost vezivanja radikala vrelih vodenih polisaharidnih ekstrakata gljive *P. ostreatus* obogaćene selenom iz kvasca dostizala je vrednost od 70.3%. Utvrđene EC<sub>50</sub> vrednosti za sve ispitivane ekstrakte bile su niske, ispod 1 mg/ml ukazujući na izraženu sposobnost hvatanja DPPH radikala. Njihove aktivnosti bile su izraženije od aktivnosti standarda (+) - katehina i  $\alpha$ -tokoferola.

Svi ekstrakti dobijeni iz gljive *P. ostreatus* obogaćene zeolitnim selenom su pokazali dobru redukcionu sposobnost (EC<sub>50</sub> < 1,8 mg/ml). Dobijene EC<sub>50</sub> vrednosti za ekstrakte gljive *C. versicolor* su se kretale u opsegu od 1,86 – 2,90 mg/ml. Svi metanolni ekstrakti dobijeni iz ove dve gljive obogaćene organskim selenom pokazale su jaču aktivnost u odnosu na kontrolne uzorke bez povećanog sadržaja selena. Pri najvećoj ispitivanoj koncentraciji od 20 mg/ml, aktivnost je bila bolja u odnosu na standard askorbinske kiseline. Ekstrakti plodonosnih tela su pokazali nešto nižu sposobnost redukcije (Fe<sup>3+</sup>) jona u odnosu na ekstrakte micelijuma. EC<sub>50</sub> vrednost za vrele vodene ekstrakte dobijene iz bukovače bila je visoka, >20 mg/ml.

Metanolni ekstrakti dobijeni iz plodonosnih tela gljive *C. versicolor* pokazali su izrazitu sposobnost heliranja Fe<sup>2+</sup> jona, značajno bolju u odnosu na standard limunske kiseline. Uzorak obogaćen selenom iz kvasca pri najvišoj testiranoj koncentraciji od 10 mg/ml helirao je oko 89.19 % jona gvožđa. Suprotno, najlošiji pri najvišoj testiranoj koncentraciji pokazao se ekstrakt micelijuma obogaćenog selenskim kvascem. Kod ekstrakata iz gljiva obogaćenih selenom u vidu zeolita, pri koncentraciji od 2,5-5 mg/ml helirajuća aktivnost je bila veća do 28% u odnosu na kontrolne uzorke bez povećanogsadržaja selena.

Regresiona analiza je pokazala da je antioksidativni potencijal, u zavisnosti od vrste ekstrakta i primenjene metode, u korelaciji sa sadržajem ukupnih fenola i flavonoida, kao i sa sadržajem ukupnih polisaharida i  $\beta$ -glukana kao glavnih nosioca aktivnosti. Istom analizom je kod metode sposobnosti heliranja jona gvožđa ustanovljena i visoka korelacija sa sadržajem ukupnog selena.

c. Uticaj selena na aktivnost enzima antioksidativnog sistema zaštite

U svežim plodonosnim telima gljiva *P. ostreatus* i *C. versicolor* obogaćenih selenom iz Se(IV)- i Se(VI)-modifikovanog zeolita ispitan je uticaj selena na aktivnost enzima antioksidativnog sistema zaštite. Dobijeni rezultati za obe gljive ukazuju na jaču aktivnost enzima superoksid-dismutaze kod selenom obogaćenih gljiva u odnosu na kontrolne neobogaćene uzorke. Kod gljive *P. ostreatus* ustanovljena je i jača aktivnost glutation-peroksidaze, dok je gljiva *C. versicolor* ukazala na jaču aktivnost katalaze pod uticajem povećane koncentracije selena u plodonosnim telima.

**ZAKLJUČAK:** Dobijeni rezultati ukazuju na to da vreli vodeni i metanolni ekstrakti dobijeni iz selenom bogaćenih gljiva generalno imaju poboljšanu antibakterijsku i antioksidativnu aktivnost. Ekstrakti gljiva se kao smeše različitih jedinjenja mogu smatrati potencijalnim agensom za sprečavanje rasta mikroorganizama poreklom iz hrane. Takođe, u prehrambenoj industriji se mogu koristiti kao zamena sintetičkih antioksidanasa. Zahvaljujući dobrim biološkim svojstvima, gljive obogaćene selenom mogu biti iskorišćene u terapeutske svrhe za dobijanje dijetetskih suplemenata. Enzimskim ispitivanjem utvrđeno je da obogaćene gljive duži vremenski period zadržavaju kvalitet, aromu i boju.

**REFERENCE:**

1. Duvnjak D. (2017). Akumulacija selena u submerzno i industrijski gajenoj gljivi *Coriolus versicolor*. Doktorska disertacija. Univerzitet u Beogradu, Srbija.
2. Duvnjak D, Pantić M, Pavlović V, Nedović V, Lević S, Matijašević D, Sknepnek A, Nikšić M. (2016). Advances in batch culture fermented *Coriolus versicolor* medicinal mushroom for the production of antibacterial compounds. *Innovative Food Science and Emerging Technologies (IFSET)* 34: 1-8.
3. Kozarski M, Klaus A, Nikšić M, Jakovljević D, Helsper JPF, van Griensven LJLD. (2011). Antioxidative and immunomodulating activities of polysaccharide extracts of the medicinal mushrooms *Agaricus bisporus*, *Agaricus brasiliensis*, *Ganoderma lucidum* and *Phellinus linteus*. *Food Chemistry* 129: 1667–1675.
4. Matijašević D. (2017). Uticaj Se(IV)- i Se(VI)- modifikovanog zeolita na antioksidativno i antimikrobno dejstvo gljiva *Pleurotus ostreatus* i *Coriolus versicolor*. Doktorska disertacija. Univerzitet u Beogradu, Srbija.
5. Matijašević D, Pantić M, Rašković B, Pavlović V, Duvnjak D, Sknepnek A, Nikšić M. (2016). The antibacterial activity of *Coriolus versicolor* methanol extract and its effect on ultrastructural changes of *Staphylococcus aureus* and *Salmonella Enteritidis*. *Frontiers in Microbiology* 7 (online).
6. Savić M. (2014). Akumulacija i transformacija selena u industrijskim gljivama. Doktorska disertacija. Univerzitet u Beogradu, Srbija.
7. Savić M, Klimaszewska M, Bamburowicz-Klimkowska M, Suchocki P, Nikšić M, Szutowski M, Wroczynski P, Turlo J. (2016). A Search for the Optimum Selenium Source to Obtain Mushroom-Derived Chemopreventive Preparations. *International Journal of Medicinal Mushrooms* 18: 279-289.