

УДК [582.284:577.151.54]: 664.292

СКРИНІНГ ШТАМІВ *TRAMETES VERSICOLOR* ЯК ПОТЕНЦІЙНИХ
ПРОДУЦЕНТІВ ПЕКТИНМЕТИЛЕСТЕРАЗИ

Зубик П. Р., аспірант

<https://orcid.org/0000-0003-0435-0254>

Клечак І. Р., к.т.н., доцент,

доцент кафедри промислової біотехнології та біофармації

<https://orcid.org/0000-0002-7382-0259>

Національний технічний університет України

«Київський політехнічний інститут імені Ігоря Сікорського», Київ, Україна

<https://doi.org/10.31073/foodresources2024-23-07>

Предмет. Соки є одним з найпопулярніших напоїв у світі, оскільки вони містять багато корисних речовин. Для їх виробництва використовуються різноманітні ферменти, перш за все пектинметилестерази, які відіграють важливу роль у процесах переробки сировини: покращують якість і збільшують вихід кінцевого продукту. Серед об'єктів біотехнології особливе місце займають базидієві макроміцети виду *Trametes versicolor*. Ці макроміцети здатні синтезувати пектинметилестерази, що робить їх перспективними для використання в харчовій промисловості. **Мета.** Вивчення потенціалу штамів *Trametes versicolor* як продуцентів для виробництва пектинметилестерази. **Методи.** Об'єктами досліджень виступали три штами *T. versicolor* (*T. versicolor* 353, *T. versicolor* 1689 і *T. versicolor* 5094), отримані з Колекції шапинкових грибів Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України. Культивування здійснювали в глюкозо-пептоно-дріжджовому середовищі за статичного режиму при температурі $28 \pm 1^\circ\text{C}$ упродовж 14 діб. В кінці культивування визначали рівень рН потенціометрично; вихід біомаси і кількість сухих речовин гравіметрично; вміст редукуючих речовин спектрофотометрично; активність пектинметилестерази титриметрично. Статистичну обробку даних виконували за допомогою критерію Дункана. **Результати.** Штам *T. versicolor* 353 відзначився найбільшим виходом біомаси ($C_{\text{БМ}} = 5,96 \pm 0,18 \text{ г/дм}^3$) та найефективнішим споживанням редукуючих речовин ($E_{\text{РР}} = 24,37 \pm 0,82\%$). Встановлено, що рівень споживання сухих речовин всіх штамів був однаковим ($E_{\text{СР}} = 27,60\text{--}31,16\%$). Штам *T. versicolor* 5094 виявив найвищу активність ПМЕ ($251,11 \pm 50,48 \text{ од/дм}^3$) і продуктивність синтезу ($v = 35,17\text{--}55,44 \text{ од/г}_{\text{БМ}}$), що перевищує показники штамів *T. versicolor* 1689 (майже вдвічі) та *T. versicolor* 353 (на 20%). **Сфера застосування результатів.** Отримані результати вказують на необхідність подальших досліджень штаму *T. versicolor* 5094 для оптимізації виходу пектинметилестерази.

Ключові слова: базидіоміцети, *Trametes*, пектинолітичні ферменти, ферментативна активність, пектинметилестераза.

SCREENING OF *TRAMETES VERSICOLOR* STRAINS
AS POTENTIAL PRODUCERS OF PECTIN METHYLESTERASE

Pavlo Zubyk, Postgraduate

<https://orcid.org/0000-0003-0435-0254>

Inna Klechak, PhD, Engineering, Associate Professor, Associate Professor of

Department of industrial biotechnology and biopharmacy

<https://orcid.org/0000-0002-7382-0259>

National Technical University of Ukraine "Igor Sikorsky Kyiv Polytechnic Institute"

Subject. Juices are one of the most popular beverages in the world because they are not only tasty, but also contain many nutrients. Various enzymes are used for their production, primarily pectin methylesterases, which play an important role in the processing of raw materials, improving the quality and increasing the yield of the final product. Among the biotechnological objects that can synthesize these enzymes, a special place is occupied by basidiomycetes, such as *Trametes versicolor*. These fungi are capable of synthesizing pectin methyl esterase, which makes them promising for use in the food industry. **Purpose.** To investigate the potential of *Trametes versicolor* as a producer for the production of pectin methyl esterase. **Methods.** Three strains of *T. versicolor* (*T. versicolor* 353, *T. versicolor* 1689 and

T. versicolor 5094) obtained from the Collection of Cap Fungi of the M.G. Kholodny Institute of Botany of the National Academy of Sciences of Ukraine were used as objects of study. Cultivation was carried out in glucose-peptone-yeast medium under static conditions at $28 \pm 1^\circ\text{C}$ for 14 days. At the end of cultivation, the pH level was determined potentiometrically; biomass yield and amount of dry matter gravimetrically; content of reducing substances spectrophotometrically; pectin methylesterase activity titrimetrically. Statistical data processing was performed using Duncan's test. **Results.** The strain *T. versicolor* 353 was distinguished by the highest biomass yield ($C_{\text{BM}} = 5.96 \pm 0.18 \text{ g/dm}^3$) and the most effective consumption of reducing substances ($E_{\text{RS}} = 24.37 \pm 0.82\%$). It was established that the level of consumption of dry matter of all strains was the same ($E_{\text{DS}} = 27.60\text{--}31.16\%$). *T. versicolor* 5094 strain showed the highest PME activity ($251.11 \pm 50.48 \text{ units/dm}^3$) and synthesis productivity ($v = 35.17\text{--}55.44 \text{ units/g}_{\text{BM}}$), which exceeds the indicators of *T. versicolor* 1689 strains (almost twice) and *T. versicolor* 353 (by 20%). **Scope of results.** The results obtained indicate the need for further research aimed at optimizing the yield of pectin methyl esterase from *T. versicolor* 5094 strain and the use of this enzyme in industrial processes.

Key words: basidiomycetes, *Trametes*, pectinolytic enzymes, enzymatic activity, pectin methyl esterase.

Постановка проблеми. Фрукти є важливим джерелом харчових волокон, мінералів та вітамінів, і, крім споживання у свіжому вигляді, вони мають високу комерційну цінність завдяки виробництву з них соків, що визначає їхню важливість у галузі напоїв. Проте, присутність зважених часток, зокрема пектинових речовин, підвищує в'язкість і спричиняє помутніння соку, погіршуючи органолептичні показники та привабливість для споживача [1]. Для покращення зовнішнього вигляду, текстури та смакових якостей сік піддається етапам освітлення, таким як центрифугування і фільтрація. Однак ці методи не завжди ефективно видаляють дрібніші частки, що залишаються у зваженому стані [2].

Одним із ефективних способів зниження в'язкості та усунення мутності є попередня обробка соку пектинолітичними ферментами (пектиназами), які розкладають пектинові сполуки, роблячи їх більш розчинними у рідкій фазі. Пектинази відіграють вирішальну роль у харчовій промисловості, особливо у виробництві фруктових соків та вина, і значно сприяють процесу екстракції та освітлення [3]. Пектинолітичні ферменти становлять близько 25% світового ринку харчових ферментів, що підкреслює їх важливість для промисловості [4].

Пектинестерази, які використовуються у процесі освітлення фруктових соків, допомагають покращити якість продукту завдяки перетворенню пектину на пектинову кислоту, яку згодом деполімеризують полігалактуранази та ліази. Хоча пектинестерази безпосередньо не впливають на в'язкість та мутність соку, їх дія відкриває можливості для подальшої обробки пектинових компонентів, забезпечуючи ефективне видалення залишкових помутнінь [4, 5].

Пектинестерази класифікують на пектинметилестеразу (ПМЕ) (EC3.1.1.11) та пектинацетилестеразу (EC3.1.1.6). Частіше у промисловості використовується ПМЕ. Цей фермент відщеплює метильну групу від естерифікованих ділянок галактуранової кислоти в ланцюгу пектину, що призводить до утворення полігалактуранової кислоти [6, 7].

ПМЕ синтезується численними мікроорганізмами, в тому числі мікроміцетами [8]. Грибна ПМЕ відіграє важливу роль у їх життєвому циклі, допомагаючи в інфікуванні рослин родами *Aspergillus*, *Botrytis* і *Fusarium*. Фермент сприяє здатності цих грибів руйнувати клітинні стінки рослин, що полегшує колонізацію [9].

ПМЕ можна отримати шляхом твердофазного або глибинного культивування. Одним із перспективних видів-продуцентів є представники мікроміцетів [9-13]. Так, Patidar та ін. культивували *A. tubingensis* на фруктових шкірках та вичавках. Вихід ферменту коливався в межах 2,2 – 44,64 од/г субстрату. Максимальний вихід спостерігали при використанні шкірок папаї з початковою вологістю 86% як субстрату [10]. Ще одним штамом, що використовується у для біосинтезу ПМЕ є *Penicillium notatum*. Як субстрат в цьому випадку було використано суміші апельсинових шкірок та пшеничних висівків.

Найбільш оптимальним виявилось співвідношення 1 : 1, що сприяло виходу ферменту на рівні 23,5 од/г субстрату за хвилину [11].

Твердофазне культивування має обмеження через недостатній контроль параметрів та труднощі з виділенням ферментів із субстрату, що ускладнює масштабування та знижує загальний вихід ферментів. Частіше у промисловості для отримання ферментів використовується глибинне культивування, тому певна частка досліджень спрямована на вивчення біосинтезу пектинметилестерази на типових рідких поживних середовищах. *P. variable* культивували на мінеральному середовищі з різними джерелами вуглецю, в тому числі глюкозою. Вихід ферменту в цьому випадку складав 19,46 мкг/см³ [12]. Подібним чином культивували *A. heteromorphus*, для якого зафіксована активність ферменту переважала 100 од [13].

В останні роки базидієві макроміцети все активніше стають об'єктом досліджень. Особливу увагу привертають їх комплекси ферментів, які здатні до розкладання лігноцелюлозної біомаси [14]. Клітинна стінка рослин є основним об'єктом дії грибів, оскільки складається з целюлози, геміцелюлози, лігніну та пектину, які піддаються деградації під час росту макроміцетів. Ефективність процесу біодеградації рослинних полісахаридів визначається активністю позаклітинних ферментів, що розкладають полісахариди, включаючи пектин [15]. У *T. versicolor* підтверджено наявність генів родини вуглеводних естераз (CE), в тому числі пектинметилестерази (CE8) [16]. Наявні роботи [15, 17] спрямовані на вивчення полігалактуроаз і пектинліаз, тому дослідження синтезу пектинметилестераз *T. versicolor* є актуальним.

Метою роботи було вивчення синтезу пектинметилестераз штамми *T. versicolor* у глибинній культурі.

Матеріали та методи. Об'єктами досліджень були 3 штами виду *Trametes versicolor* (L.) Lloyd: *T. versicolor* 353, *T. versicolor* 1689 і *T. versicolor* 5094, отримані з Колекції шапинкових грибів Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України (ІБК) [18].

Дослідження росту і ферментативної активності здійснювали на глюкозо-пептоно-дріжджовому середовищі складу (г/дм³): глюкоза – 25,0, пептон – 3,0, дріжджовий екстракт – 3,0, MgSO₄·7H₂O – 0,25 [19]. Вихідне рН встановлювали на рівні 6,8 ± 0,2 використовуючи 0,1 н розчини КОН та НСІ.

Засів проводили шляхом внесення трьох дисків із семиденною культурою, попередньо вирощеною на агаризованому ячмінно-солодовому екстракті. Культивування здійснювали в статичному режимі (без перемішування) у колбах об'ємом 250 см³ із 50 см³ живильного середовища за температури 28 ± 1°C упродовж 14 діб [20].

Після завершення культивування від культуральної рідини відділяли міцелій фільтруванням та висушували до сталої маси за 105 ± 5°C для визначення вмісту абсолютно сухої біомаси (*C_{БМ}*, г/дм³). У культуральній рідині визначали рН потенціометрично [19], вміст редуруючих речовин спектрофотометрично (з використанням реактиву DNS за калібрувальним графіком за глюкозою) [21], вміст сухих речовин гравіметрично.

Для визначення активності пектинметилестерази в культуральній рідині використовували 1% розчин пектину. За одиницю пектинестеразної активності (ПМЕ, од) приймали таку кількість ферменту, що каталізує утворення 1 мкЕк кислоти за хвилину [22].

Розраховували економічний коефіцієнт за редуруючими речовинами (*E_{PP}*, %) та сухими речовинами (*E_{CP}*, %) [23].

Специфічну активність (продуктивність) пектинметилестерази (*ν*, од/(г_{БМ})) знаходили за формулою [24]:

$$\nu = \frac{ПМЕ}{C_{БМ}} \quad (1)$$

Статистичну обробку даних проводили, використовуючи тест Дункана. Усі експерименти виконувалися в трьох повторностях, а результати вважалися статистично достовірними при значенні $p\text{-value} < 0,05$. Обробку даних і побудову графіків здійснювали за допомогою програмного забезпечення Excel (США).

Результати та обговорення. Оцінка культивування штамів досліджуваних штамів *T. versicolor* представлена у таблиці 1.

Таблиця 1

Основні показники культивування штамів *T. Versicolor*

Показник	Штам		
	<i>T. versicolor</i> 353	<i>T. versicolor</i> 1689	<i>T. versicolor</i> 5094
pH	4,56 ± 0,03 ^b	4,78 ± 0,03 ^a	4,79 ± 0,05 ^a
C_{BM} , г/дм ³	5,96 ± 0,18 ^a	5,34 ± 0,03 ^b	5,57 ± 0,19 ^{ab}
EK_{PP} , %	24,37 ± 0,82 ^a	21,99 ± 0,14 ^b	22,97 ± 0,78 ^{ab}
EK_{CP} , %	29,91 ± 1,25 ^a	29,19 ± 0,16 ^a	29,13 ± 1,53 ^a

Примітки: результати представлені у вигляді середнє значення ± SD значень, отриманих за трьома вимірюваннями. Різні відповідні літери вказують на значні відмінності між штамами при $p < 0,05$ за критерієм Дункана

Отримані дані з табл. 1 вказують на різні стратегії росту штамів *T. versicolor* на глюкозо-пептоно-дріжджовому середовищі. *T. versicolor* 353 показав нижче значення pH, порівняно з *T. versicolor* 1689 і *T. versicolor* 5094. Це може свідчити про особливості його метаболізму, зокрема, накопичення органічних кислот в ході росту. У той же час, штами *T. versicolor* 1689 і *T. versicolor* 5094 продемонстрували вищий рівень pH, що може бути ознакою менш інтенсивного метаболізму. Це узгоджується з даними літератури, які вказують на те, що активний ріст базидієвих макроміцетів часто супроводжується зниженням pH середовища [25]. Найбільший вихід біомаси продемонстрував штам *T. versicolor* 353, значення C_{BM} якого є на 12% вищим, порівняно з *T. versicolor* 1689. Штам *T. versicolor* 5094 показав проміжне значення C_{BM} , яке не відрізняється статистично ні від *T. versicolor* 353, ні від *T. versicolor* 1689. Значення виходу біомаси на глюкозо-пептоно-дріжджовому середовищі були значно вищими ніж аналогічні, отримані Клечак та ін. після культивування на глюкозо-пептоновому середовищі [23].

Вища концентрація біомаси у *T. versicolor* 353 може свідчити про ефективніше засвоєння поживних речовин та здатність до активного росту в заданих умовах. Це підтверджується значеннями економічного коефіцієнту за редукуючими речовинами. Нижчі показники C_{BM} та EK_{PP} інших штамів вказують на менш ефективне використання редукуючих речовин для приросту біомаси, що може бути пов'язано із їх залученням в інших реакціях. Відмінностей у показниках EK_{CP} між трьома штамами не зафіксовано. Це може бути пов'язано із подібними механізмами метаболізму компонентів субстрату, які забезпечують однаковий рівень його перетворення у біомасу. З літератури відомо, що компоненти субстрату значно впливають на ріст макроміцетів, навіть для штамів одного виду [26]. Значення EK_{CP} , отримані після культивування на глюкозо-пептоно-дріжджовому середовищі в цьому дослідженні, були вищими для штамів *T. versicolor* 353 і *T. versicolor* 1689, тоді як *T. versicolor* 5094 продемонстрував дещо нижчі показники порівняно з даними літератури [23].

Дані, представлені на рис. 1.а вказують на відмінності в пектинметилестеразній активності досліджених штамів *T. versicolor*. Найвищу активність продемонстрував штам *T. versicolor* 5094, значення ПМЕ якого склало $251,11 \pm 50,48$ од/л. Так, переважання середнього значення ПМЕ цього штаму порівняно з *T. versicolor* 353 становило майже 20%, а *T. versicolor* 1689 – 85%. Такі відмінності у рівнях ПМЕ між штамами можуть бути пов'язані з різною експресією пектинметилестерази [27].

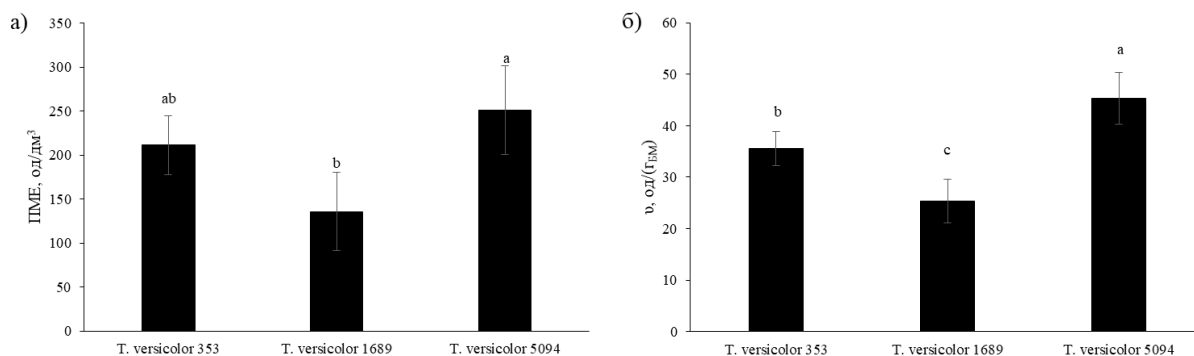


Рис. 1. Активність (а) та продуктивність синтезу (б) пектинметилестерази штамми *T. versicolor*

Результати представлені у вигляді середнє значення $\pm$ SD значень, отриманих за трьома вимірюваннями. Різні відповідні літери вказують на значні відмінності між штамми при $p < 0,05$ за критерієм Дункана

Відмінності значень розрахованої специфічної активності ферменту мали схожу тенденцію до активності в культуральній рідині (рис. 1.б), попри відмінності у накопичення біомаси. Найбільш продуктивним щодо пектинметилестерази штамом є *T. versicolor* 5094, для якого v знаходилися в діапазоні 35,17–55,44 од/(гБМ). Продуктивність штаму *T. versicolor* 353 була майже на 20% нижчою, тоді як це значення для штаму *T. versicolor* 1689 було майже вдвічі нижчим.

Висновки. Штам *T. versicolor* 353 характеризується найбільшим виходом біомаси та найефективнішим засвоєнням компонентів субстрату (глюкозо-пептоно-дріжджового середовища). Штами *T. versicolor* 353 і 5094 відзначилися найвищими показниками активності пектинметилестерази – $211,11 \pm 33,56$ од/дм³ та $251,11 \pm 50,48$ од/дм³ відповідно. Значення продуктивності синтезу пектинметилестерази *T. versicolor* 5094 (35,17–55,44 од/гБМ) переважали показники інших штамів.

T. versicolor 5094 може бути використаний для подальших досліджень, що спрямовані на оптимізацію умов культивування для збільшення виходу пектинметилестерази та її використання у харчовій промисловості.

Бібліографія

- Li M., Zhang W., Guo C., Hu X., Yi J. Role of pectin characteristics in orange juice stabilization: Effect of high-pressure processing in combination with centrifugation pretreatments. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2022. Vol. 215. P. 615–624. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.06.166>.
- Sarbatly R., Sariau J., Krishnaiah D. Recent Developments of Membrane Technology in the Clarification and Concentration of Fruit Juices. *Food Engineering Reviews*. 2023. <https://doi.org/10.1007/s12393-023-09346-2>.
- Perreault V., Gouin N., Bérubé A., Villeneuve W., Pouliot Y., Doyen A. Effect of Pectinolytic Enzyme Pretreatment on the Clarification of Cranberry Juice by Ultrafiltration. *Membranes*. 2021. Vol. 11, no. 1. P. 55. <https://doi.org/10.3390/membranes11010055>.
- Shrestha S., Rahman M. S., Qin W. New insights in pectinase production development and industrial applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 2021. Vol. 105, no. 24. P. 9069–9087. <https://doi.org/10.1007/s00253-021-11705-0>.
- Kumar R., Meghwanshi G. K., Marcianò D., Ullah S. F., Bulone V., Toffolatti S. L., Srivastava V. Sequence, structure and functionality of pectin methylesterases and their use in sustainable carbohydrate bioproducts: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*. 2023. P. 125385. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.125385>.
- Villarreal F., Stocchi N., ten Have A. Functional Classification and Characterization of the Fungal Glycoside Hydrolase 28 Protein Family. *Journal of Fungi*. 2022. Vol. 8, no. 3. P. 217. <https://doi.org/10.3390/jof8030217>.

7. Patel V. B., Chatterjee S., Dhoble A. S. A review on pectinase properties, application in juice clarification, and membranes as immobilization support. *Journal of Food Science*. 2022. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.16233>.
8. Haile S., Ayele A. Pectinase from Microorganisms and Its Industrial Applications. *The Scientific World Journal*. 2022. Vol. 2022. P. 1–15. <https://doi.org/10.1155/2022/1881305>.
9. Xia Y., Sun G., Xiao J., He X., Jiang H., Zhang Z., Zhang Q., Li K., Zhang S., Shi X., Wang Z., Liu L., Zhao Y., Yang Y., Duan K., Ye W., Wang Y., Dong S., Wang Y., Ma Z., Wang Y. AlphaFold-guided redesign of a plant pectin methylesterase inhibitor for broad-spectrum disease resistance. *Molecular Plant*. 2024. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2024.07.008>.
10. Patidar M. K., Nighojkar S., Kumar A., Nighojkar A. Papaya peel valorization for production of acidic pectin methylesterase by *Aspergillus tubingensis* and its application for fruit juice clarification. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*. 2016. Vol. 6. P. 58–67. <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2016.02.008>.
11. Gayen S., Ghosh U. Pectinmethylesterase Production from mixed agro- wastes by *Penicillium notatum* NCIM. 923 in Solid-State fermentation. *Journal of Bioremediation & Biodegradation*. 2011. Vol. 02, no. 02. <https://doi.org/10.4172/2155-6199.1000119>.
12. Akintobi A., Oluitiola P., Olawale A., Odu N., Okonko I. Production of Pectinase Enzymes system in culture filtrates of *Penicillium variabile* Sopp. *Nature and Science*. 2012. Vol. 10, no. 7. P. 99–109.
13. Mandhania S., Jain V., Malhotra S. Culture Optimization for Enhanced Production of Microbial Pectin Methylesterase under Submerged Conditions. *Asian Journal of Biochemistry*. 2010. Vol. 5, no. 1. P. 12–22.
14. Mujtaba M., Fraceto L., Fazeli M., Mukherjee S., Savassa S. M., Araujo de Medeiros G., do Espirittto Santo Pereira A., Donnini Mancana S., Lipponen J., Vilaplana F. Lignocellulosic biomass from agricultural waste to the circular economy: A review with focus on biofuels, biocomposites and bioplastics. *Journal of Cleaner Production*. 2023. P. 136815. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2023.136815>.
15. do Rosário Freixo M., Karmali A., Arteiro J. M. Production of polygalacturonase from *Coriolus versicolor* grown on tomato pomace and its chromatographic behaviour on immobilized metal chelates. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*. 2008. Vol. 35, № 6. P. 475–484. <https://doi.org/10.1007/s10295-008-0305-1>.
16. Sista Kameshwar A. K., Qin W. Comparative study of genome-wide plant biomass-degrading CAZymes in white rot, brown rot and soft rot fungi. *Mycology*. 2017. Vol. 9, № 2. P. 93–105. <https://doi.org/10.1080/21501203.2017.1419296>.
17. Levin L., Forchiassin F. Culture conditions for the production of pectinolytic enzymes by the white-rot fungus *Trametes trogii* on a laboratory scale. *Acta Biotechnologica*. 1998. Vol. 18, no. 2. P. 157–166. <https://doi.org/10.1002/abio.370180213>.
18. Bisko N., Lomberg M., Mykchaylova O., Mytropolska N. IBK Mushroom Culture Collection. Version 1.2. The IBK Mu-shroom Culture Collection of the M.G. Kholodny Institute of Botany. M. G. Kholodny Institute of Botany, 2020. <https://doi.org/10.15468/dzdsqu>.
19. Mykchaylova O., Poyedinok N. Antimicrobial Activity of *Fomitopsis Officinalis* (Vill.) Bondartsev & Singer in Pure Culture. *Innovative Biosystems and Bioengineering*. 2021. Vol. 5, № 4. P. 220–227. <https://doi.org/10.20535/ibb.2021.5.4.246668>.
20. Lomberg M., Krupodorova T., Krasinko V., Mykchaylova O. The antibacterial activity of culture filtrates and mycelia of selected strains of macromycetes from the genus *Hericium*. *Botanica Serbica*. 2023. Vol. 47, no. 2. P. 241–249. <https://doi.org/10.2298/botserb2302241l>.
21. Wood I. P., Elliston A., Ryden P., Bancroft I., Roberts I. N., Waldron K. W. Rapid quantification of reducing sugars in biomass hydrolysates: Improving the speed and precision of the dinitrosalicylic acid assay. *Biomass and Bioenergy*. 2012. Vol. 44. P. 117–121. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2012.05.003>.
22. Pednekar S., Mangaonkar K. Spectrophotometric analysis of enzymatic profile of *Carica papaya* pectinesterase. *International Research Journal of Plant Science*. 2022. Vol. 13, № 3. P. 1–6.
23. Клечак І., Митропольська Н., Атоненко Л., Нишпорська О. Особливості росту *Coriolus versicolor* у глибинній культурі. *Наукові вісники НТУУ "КПІ"*. 2009. Т. 1. С. 128–133.

24. Dagbagli S., Goksungur Y. Optimization of β -galactosidase production using *Kluyveromyces lactis* NRRL Y-8279 by response surface methodology. *Electronic Journal of Biotechnology*. 2008. Vol. 11, № 4. <https://doi.org/10.2225/vol11-issue4-fulltext-12>.
25. Elisashvili V., Metreveli E., Khardziani T., Sokhadze K., Kobakhidze A., Kachlishvili E. Review of Recent Advances in the Physiology of the Regulation of Cellulase and Xylanase Production by Basidiomycetes. *Energies*. 2023. Vol. 16, № 11. P. 4382. <https://doi.org/10.3390/en16114382>.
26. Desisa B., Muleta D., Jida M., Dejene T., Goshu A., Negi T., Martin P. Comprehending and Domesticating of Wild Growing Turkey Tail Mushroom (*Trametes versicolor*) from Ethiopia on augmented agro-industrial byproducts. *Mycological Progress*. 2024. Vol. 23, № 62. <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-3415923/v1>.
27. Liu Q., Talbot M., Llewellyn D. J. Pectin Methylsterase and Pectin Remodelling Differ in the Fibre Walls of Two *Gossypium* Species with Very Different Fibre Properties. *PLoS ONE*. 2013. Vol. 8, № 6. P. e65131. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0065131>.

References

1. Li, M., Zhang, W., Guo, C., Hu, X., & Yi, J. (2022). Role of pectin characteristics in orange juice stabilization: Effect of high-pressure processing in combination with centrifugation pretreatments. *International Journal of Biological Macromolecules*, 215, 615–624. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.06.166>.
2. Sarbatly, R., Sariau, J., & Krishnaiah, D. (2023). Recent Developments of Membrane Technology in the Clarification and Concentration of Fruit Juices. *Food Engineering Reviews*. <https://doi.org/10.1007/s12393-023-09346-2>.
3. Perreault, V., Guoin, N., Bérubé, A., Villeneuve, W., Pouliot, Y., & Doyen, A. (2021). Effect of Pectinolytic Enzyme Pretreatment on the Clarification of Cranberry Juice by Ultrafiltration. *Membranes*, 11(1), 55. <https://doi.org/10.3390/membranes11010055>.
4. Shrestha, S., Rahman, M. S., & Qin, W. (2021). New insights in pectinase production development and industrial applications. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 105(24), 9069–9087. <https://doi.org/10.1007/s00253-021-11705-0>.
5. Kumar, R., Meghwanshi, G. K., Marcianò, D., Ullah, S. F., Bulone, V., Toffolatti, S. L., Srivastava, V. (2023). Sequence, structure and functionality of pectin methylsterases and their use in sustainable carbohydrate bioproducts: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 125385. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.125385>.
6. Villarreal, F., Stocchi, N., & ten Have, A. (2022). Functional Classification and Characterization of the Fungal Glycoside Hydrolase 28 Protein Family. *Journal of Fungi*, 8 (3), 217. <https://doi.org/10.3390/jof8030217>.
7. Patel, V. B., Chatterjee, S., & Dhoble, A. S. (2022). A review on pectinase properties, application in juice clarification, and membranes as immobilization support. *Journal of Food Science*. <https://doi.org/10.1111/1750-3841.16233>.
8. Haile, S., & Ayele, A. (2022). Pectinase from Microorganisms and Its Industrial Applications. *The Scientific World Journal*, 2022, 1–15. <https://doi.org/10.1155/2022/1881305>.
9. Xia, Y., Sun, G., Xiao, J., He, X., Jiang, H., Zhang, Z., Zhang, Q., Li, K., Zhang, S., Shi, X., Wang, Z., Liu, L., Zhao, Y., Yang, Y., Duan, K., Ye, W., Wang, Y., Dong, S., Wang, Y., Ma, Z., Wang, Y. (2024). AlphaFold-guided redesign of a plant pectin methylsterase inhibitor for broad-spectrum disease resistance. *Molecular Plant*. <https://doi.org/10.1016/j.molp.2024.07.008>.
10. Patidar, M. K., Nighojkar, S., Kumar, A., & Nighojkar, A. (2016). Papaya peel valorization for production of acidic pectin methylsterase by *Aspergillus tubingensis* and its application for fruit juice clarification. *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, 6, 58–67. doi:10.1016/j.bcab.2016.02.008.
11. Gayen, S., & Ghosh, U. (2011). Pectinmethylsterase Production from mixed agro-wastes by *Penicillium notatum* NCIM. 923 in Solid-State fermentation. *Journal of Bioremediation & Biodegradation*, 02(02). <https://doi.org/10.4172/2155-6199.1000119>.
12. Akintobi, A., Oluitiola, P., Olawale, A., Odu, N., & Okonko, I. (2012). Production of Pectinase Enzymes system in culture filtrates of *Penicillium variabile* Sopp. *Nature and Science*, 10(7), 99–109.
13. Mandhania, S., Jain, V., & Malhotra, S. (2010). Culture Optimization for Enhanced Production of Microbial Pectin Methylsterase under Submerged Conditions. *Asian Journal of Biochemistry*, 5 (1), 12–22.

14. Mujtaba, M., Fraceto, L., Fazeli, M., Mukherjee, S., Savassa, S. M., Araujo de Medeiros, G., do Espirittto Santo Pereira, A., Donnini Mancana, S., Lipponen, J., Vilaplana, F. (2023). Lignocellulosic biomass from agricultural waste to the circular economy: A review with focus on biofuels, biocomposites and bioplastics. *Journal of Cleaner Production*, 136815. <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2023.136815>.
15. do Rosário Freixo, M., Karmali, A., & Arteiro, J. M. (2008). Production of polygalacturonase from *Coriolus versicolor* grown on tomato pomace and its chromatographic behaviour on immobilized metal chelates. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 35 (6), 475–484. <https://doi.org/10.1007/s10295-008-0305-1>.
16. Sista Kameshwar, A. K., & Qin, W. (2017). Comparative study of genome-wide plant biomass-degrading CAZymes in white rot, brown rot and soft rot fungi. *Mycology*, 9 (2), 93–105. <https://doi.org/10.1080/21501203.2017.1419296>.
17. Levin, L., & Forchiassin, F. (1998). Culture conditions for the production of pectinolytic enzymes by the white-rot fungus *Trametes trogii* on a laboratory scale. *Acta Biotechnologica*, 18 (2), 157–166. <https://doi.org/10.1002/abio.370180213>.
18. Bisko, N., Lomberg, M., Mykchaylova, O., & Mytropolska, N. (2020). IBK Mushroom Culture Collection. Version 1.2. The IBK Mu-shroom Culture Collection of the M.G. Kholodny Institute of Botany. M.G. Kholodny Institute of Botany. <https://doi.org/10.15468/dzdsqu>.
19. Mykchaylova, O., & Poyedinok, N. (2021). Antimicrobial Activity of *Fomitopsis Officinalis* (Vill.) Bondartsev & Singer in Pure Culture. *Innovative Biosystems and Bioengineering*, 5 (4), 220–227. <https://doi.org/10.20535/ibb.2021.5.4.246668>.
20. Lomberg, M., Krupodorova, T., Krasinko, V., & Mykchaylova, O. (2023). The antibacterial activity of culture filtrates and mycelia of selected strains of macromycetes from the genus *Hericium*. *Botanica Serbica*, 47(2), 241–249. <https://doi.org/10.2298/botserb2302241l>.
21. Wood, I. P., Elliston, A., Ryden, P., Bancroft, I., Roberts, I. N., & Waldron, K. W. (2012). Rapid quantification of reducing sugars in biomass hydrolysates: Improving the speed and precision of the dinitrosalicylic acid assay. *Biomass and Bioenergy*, 44, 117–121. <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2012.05.003>.
22. Pednekar, S., & Mangaonkar, K. (2022). Spectrophotometric analysis of enzymatic profile of *Carica papaya* pectinesterase. *International Research Journal of Plant Science*, 13 (3), 1–6.
23. Klechak, I., Mytropolska, N., Antonenko, L., & Nyshporska, O. (2009). Osoblyvosti rostu *Coriolus versicolor* u hlybynnii kulturi [Growth characteristics of *Coriolus versicolor* in submerged culture]. *Haykovi vistri HTYU "KPII"*, 1, 128–133 [in Ukrainian].
24. Dagbagli, S., & Goksungur, Y. (2008). Optimization of β -galactosidase production using *Kluyveromyces lactis* NRRL Y-8279 by response surface methodology. *Electronic Journal of Biotechnology*, 11(4), <https://doi.org/10.2225/vol11-issue4-fulltext-12>.
25. Elisashvili, V., Metreveli, E., Khardziani, T., Sokhadze, K., Kobakhidze, A., & Kachlishvili, E. (2023). Review of Recent Advances in the Physiology of the Regulation of Cellulase and Xylanase Production by Basidiomycetes. *Energies*, 16(11), 4382. <https://doi.org/10.3390/en16114382>.
26. Desisa, B., Muleta, D., Jida, M., Dejene, T., Goshu, A., Negi, T., & Martin, P. (2024). Comprehending and Domesticating of Wild Growing Turkey Tail Mushroom (*Trametes versicolor*) from Ethiopia on augmented agro-industrial byproducts. *Mycological Progress*, 23 (62). <https://doi.org/10.21203/rs.3.rs-3415923/v1>.
27. Liu, Q., Talbot, M., & Llewellyn, D. J. (2013). Pectin Methylesterase and Pectin Remodelling Differ in the Fibre Walls of Two *Gossypium* Species with Very Different Fibre Properties. *PLoS ONE*, 8(6), 65131. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0065131>.