

ДНІПРОВСЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
ІМЕНІ ОЛЕСЯ ГОНЧАРА

Біолого-екологічний факультет  
Кафедра мікробіології, вірусології та біотехнології

**Кваліфікаційна робота** другий (магістерський) рівень вищої освіти  
спеціальність 162. Біотехнології та біоінженерія

на тему: «ОПТИМІЗАЦІЯ ПРОЦЕСУ ГЛИБИННОГО  
КУЛЬТИВУВАННЯ *PLEUROTUSOSTREATUS* ЯК ОСНОВИ  
БІОПРЕПАРАТІВ КОРМОВОГО ПРИЗНАЧЕННЯ»

Виконавець

студент групи БН-22м

Лук'яненко Дар'я

Романівна

(П.І.Б.)

\_\_\_\_\_ (підпис)

Керівник

канд.біол.наук, доцент кафедри

мікробіології, вірусології та біотехнології

Лаврентьєва Катерина Валеріївна

(П.І.Б.)

\_\_\_\_\_ (підпис)

Завідувач випускової кафедри

мікробіології, вірусології

та біотехнології

канд.біол.наук, доцент

Скляр Тетяна Володимирівна

(П.І.Б.)

\_\_\_\_\_ (підпис)

Дніпро 2024

## РЕФЕРАТ

Пояснювальна записка: 66 с., 19 рис., 3 табл., 60 літер. джерел.

В даній роботі біологічним агентом дослідження був представник вищих їстівних базидіоміцетів – гриб *Pleurotus ostreatus* НК-35, який вважається одним з найбільш перспективних видів грибів для штучного вирощування.

Метою даної роботи було дослідження процесу вирощування *Pleurotus ostreatus* НК-35 на ферментованій крохмалевмісній сировині різного походження та різних джерелах азоту.

Огляд літератури дипломної роботи узагальнює наявну на теперішній час інформацію про харчову, лікарську та екологічну цінність грибів роду *Pleurotus*, а також надає інформацію про методи глибинного культивування грибів *Pleurotus* для отримання білковмісних продуктів. Продемонстровано потенціал культивування цих грибів як джерела біологічно-активних речовин.

В розділі «Матеріали і методи дослідження» приведений матеріал про сировину та матеріали, які використовували під час досліджень. А також викладені методики проведених експериментів.

Результати цього дослідження можуть знайти своє застосування на виробництвах грибної біомаси, яку отримують на основі рослинних крохмалевмісних матеріалів. Це, в свою чергу, впливатиме на розвиток промислового виробництва міцелію гливи в Україні і на розвиток народного господарства країни в цілому. А, отже є досить перспективним напрямком в галузі біотехнології.

**КЛЮЧОВІ СЛОВА:** PLEUROTUS OSTREATUS, ФЕРМЕНТАЦІЯ, ГЛИБИННЕ КУЛЬТИВУВАННЯ, ПОЖИВНЕ СЕРЕДОВИЩЕ, МІЦЕЛІЙ, ФЕРМЕНТ.

## RESUME

Graduate qualification work contains: 66 pages, 19 figures, 3 tables, 60 sources.

In this study, the biological agent under investigation was a representative of higher edible basidiomycetes - the fungus *Pleurotus ostreatus* NK-35, considered one of the most promising mushroom species for cultivation.

The aim of this work was to investigate the cultivation process of *Pleurotus ostreatus* NK-35 on fermented starch-containing raw materials of different origins and various nitrogen sources.

The literature review of the graduate work summarizes the currently available information on the nutritional, medicinal, and ecological value of *Pleurotus* mushrooms, as well as provides information on the deep cultivation method of *Pleurotus* mushrooms for obtaining protein-rich products. It demonstrates the potential of cultivating these mushrooms as a source of biologically active substances.

The "Materials and Methods" section provides information about the raw materials and materials used during the research, as well as the methodologies of the conducted experiments.

The results of this study can find application in mushroom biomass production based on plant starch-containing materials. This, in turn, will impact the development of industrial mushroom mycelium production in Ukraine and contribute to the overall development of the country's economy. Therefore, it represents a promising direction in the field of biotechnology.

**KEYWORDS:** PLEUROTUS OSTREATUS, FERMENTATION, DEEP CULTIVATION, NUTRIENT ENVIRONMENT, MYCELIUM, ENZYME.

## ЗМІСТ

ВСТУП.....	5
ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	7
1 Живлення та штучне вирощування вищих базидіоміцетів .....	7
1.1 Живлення вищих базидіоміцетів .....	7
1.2 Живильні середовища для вирощування вищих їстівних грибів .....	10
1.3 Штучне культивування вищих їстівних базидіоміцетів.....	12
2 Перспективи використання базидіальних грибів для отримання кормових продуктів та біопрепаратів .....	15
2.1 Кормова цінність грибу <i>Pleurotostreatus</i> .....	15
2.2 Лікувальна цінність грибу <i>Pleurotostreatus</i> .....	19
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА.....	25
3 Матеріали та методи дослідження.....	25
3.1 Біологічний агент та схема дослідження .....	25
3.2 Методи дослідження.....	29
3.3 Статистична обробка експериментальних даних.....	37
4 Результати та їх обговорення .....	39
4.1 Порівняльна характеристика колекційних штамів <i>Pleurotostreatus</i> для проведення дослідницької роботи.....	39
4.2 Вплив різних джерел азоту на вміст протеїну та накопичення сухої біомаси у штама <i>Pleurotostreatus</i> НК-35 .....	42
4.3 Вплив якості досліджуваних поживних середовищ на вихід біомаси грибу <i>Pleurotostreatus</i> НК-35 .....	46
4.4 Вплив якості досліджуваних поживних середовищ на вміст протеїну в біомасі грибу <i>Pleurotostreatus</i> НК-35 .....	51
ВИСНОВКИ.....	59
СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ .....	60

## ВСТУП

Раціональне використання природних ресурсів, пошук нових біологічних об'єктів для отримання повноцінної білкової їжі являється одним з суттєвих аспектів народного господарства. Джерелом збільшення ресурсів білка, отриманого шляхом мікробіологічного синтезу, може бути промислове виробництво міцелію вищих грибів, який за поживними та смаковими якостями володіє безсумнівною перевагою перед багатьма продуктами рослинного походження. Отримання білку з грибів може внести вклад в рішення світової проблеми ліквідації білкового дефіциту [1]. Отримати цінні білкові продукти можна за рахунок культивування різних штамів їстівних грибів глибинним способом.

У гливи виявлено антиоксиданти, які гальмують старіння організму. Такі гриби, як глива і печериця, мають яскраво виражену онкостатичну властивість та антисклеоротичну дію. При вживанні плевроту звичайного зменшується вірогідність атеросклерозу та інфаркту. Властивість грибів як сорбента, поглинача важких металів і радіонуклідів, використовують для виведення з організму цих шкідливих речовин. Споживання грибів знижує рівень холестерину у крові приблизно на 30%. Встановлено антибактеріальну і протипухлинну активність гливи.

Гриби володіють багатим ферментним апаратом, займають різні екологічні ніші і розвиваються на різноманітних субстратах. Вони виробляють велику кількість фізіологічно активних речовин, які широко використовуються в медицині та ветеринарії в якості лікарських препаратів, в промисловості — при виробництві ферментів, амінокислот, білків і вітамінів. Велике значення мають гриби в біотехнології, як продуценти різних біологічно активних речовин для харчової промисловості, медицини, сільського господарства та інших галузей [2].

Актуальним є питання покращення якості кормового білка та підвищення економічності його виробництва, а також створення більш вдосконаленої технології отримання мікробіологічної продукції на основі нових, більш дешевих видів сировини та підвищення виходу продукції.

Метою даної роботи було дослідження процесу вирощування *Pleurotus ostreatus* НК-35 на ферментованій крохмалевмісній сировині різного походження та різних джерелах азоту.

Відповідно до поставленої мети вирішувались наступні завдання:

- провести вибір штаму *Pleurotus ostreatus* з музею мікроорганізмів кафедри мікробіології, вірусології та біотехнології;
- дослідити вплив глютену та соєвого молока як потенціальних джерел азоту на розвиток *Pleurotus ostreatus* НК-35;
- дослідити вплив гідролізатів кукурудзяного, гречаного, пшеничного, вівсяного, житнього борошна та пшеничної мучки в якості джерела вуглецю на вихід біомаси гриба та вмісту протеїну в міцелії;
- обрати оптимальний варіант поживного середовища для накопичення біомаси *Pleurotus ostreatus* НК-35 і протеїну в міцелії в умовах даного експерименту.

Необхідність і можливість розвитку культивування їстівних та цілющих грибів обумовлені кількома факторами.

По-перше, вони є важливим джерелом високоякісного білка, вітамінів, мікроелементів та ферментів.

По-друге, гриби мають потенціал високої продуктивності і є однією з найвроджайніших сільськогосподарських культур.

По-третє, для вирощування їстівних та лікувальних грибів використовують відходи сільського, лісового господарства та переробної промисловості.

Таким чином, розвиток галузі грибівництва сприяє вирішенню проблем виробництва як харчових продуктів, так і лікарських речовин.

## ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

### 1 Живлення та штучне вирощування вищих базидіоміцетів

#### 1.1 Живлення вищих базидіоміцетів

Джерелами вуглецю для грибів можуть бути різні органічні сполуки: вуглеводи (цукри, оліго- та полісахариди), спирти, органічні кислоти, амінокислоти, білки та ін [3].

Гриби в якості джерела вуглецю можуть використовувати більшість органічних речовин, які не мають суворої специфічності. Однак, деякі гриби використовують лише певні речовини, як джерела вуглецю. Наприклад, одні види грибів краще використовують глюкозу, інші – фруктозу або пентози [4].

В ряді випадків за наявності в середовищі декількох цукрів біомаса міцелію більша, ніж сумарна біомаса міцеліїв при використанні кожного джерела вуглецю окремо. Наприклад, додавання сорбози в середовище з іншими джерелами вуглецю (мальтозою, глюкозою) викликає більш високий рівень росту міцелію [5].

У багатьох грибів маса міцелію на середовищі із сахарозою більше, ніж сумарна маса міцелію на середовищах з глюкозою та фруктозою. У грибів в ряді випадків з'являється неоднакова потреба в різних джерелах вуглецю для росту міцелію, утворення репродуктивних органів, накопичення в середовищі або міцелії конкретного метаболіту. Тому придатність тієї чи іншої сполуки в якості джерела вуглецю для грибів визначається за різними показниками –

максимальному росту міцелію, ступеня спороутворення або максимальному

утворенню конкретного метаболіту. Нерідко ці процеси не співпадають і навіть носять протилежний характер: наприклад, максимальний ріст міцелію може не співпадати з максимумом утворення в середовищі різних продуктів метаболізму[6]. Для метаболізму часто необхідне гальмування росту та використання грибом проміжних продуктів перетворення вуглеводів або інших джерел вуглецю. При рості на середовищі, що складається із суміші різних джерел вуглецю, різні види грибів використовують їх по чергову. В визначеній послідовності вживаються також проміжні продукти метаболізму, що визначають рівень росту міцелію[7]. При використанні складних органічних речовин, наприклад полісахаридів, першим етапом метаболізму є їх перетворення конкретними ферментами грибів в мономерні сполуки та їх послідовне використання грибами [8].

Придатність різних джерел вуглецю для гриба виражається не тільки рівнем росту міцелію, але й часом його максимального накопичення. При рості на середовищах з більш придатними джерелами вуглецю, як правило, відсутня або зводиться до мінімального часу lag-фаза, і максимальна маса міцелію може бути в ранньому віці культури[9].

Неорганічний азот, головним чином нітратний та аміачний, цілком придатний для більшості грибів. Нітратний азот являється фізіологічно лужним, так як при використанні нітратів натрію або калію грибок засвоює катіон ( $\text{NO}_3$ ) і в середовищі в більшій кількості накопичується аніон ( $\text{K}^+$  або  $\text{Na}^+$ ). Аміачний азот – фізіологічно кислий, так як грибок використовує аніон ( $\text{NH}_3^-$ ), а катіон накопичується в середовищі в більшій кількості [10].

Для одних видів грибів більш придатний аміачний азот, для інших – нітратний, але для багатьох грибів ці джерела рівноцінні.

В якості джерела азоту гриби можуть використовувати органічні сполуки – білки, пептон, пептиди, амінокислоти, нітрати й нітрити. Діапазон використання перелічених джерел азоту неоднаковий у грибів, деякі

використовують широке коло джерел азоту – від атмосферного азоту до органічного, інші – більш вузький. Більшість грибів краще використовують аміачний та нітратний азот, гірше – азот окремих амінокислот [11].

Для росту та життєдіяльності грибів необхідні мінеральні речовини. Макроелементи необхідні з відносно високою концентрацією, до них відносяться сірка, фосфор, калій, кальцій, магній, залізо (крім вуглецю, кисню, водню, азоту). Мінеральні елементи необхідні в низьких концентраціях (мкг/л), називаються мікроелементами, до них відносяться марганець, цинк, мідь, кобальт, нікель, бор та багато інших [11].

Методи вивчення впливу мінеральних елементів ґрунтовані на ростовій реакції гриба на їх наявність, відсутність та різну концентрацію в середовищі. Існує два основних методи вивчення впливу мінеральних елементів на гриби:

- повне видалення одного елемента або їх сполучень з середовища та вивчення росту, спороутворення та інших ознак організму при їх відсутності та при введенні в визначеній концентрації;
- вивчення функціональної ролі окремих мікроелементів шляхом визначення активності та вмісту ферментів, токсинів, вітамінів та інших метаболітів в клітинах міцелію та культуральному середовищі при рості на середовищах з низькими та високими концентраціями окремих мінеральних елементів або їх сполучень[12].

Клітини всіх організмів, в тому числі й грибів, містять так названі органогенні елементи – водень, вуглець, азот, кисень, фосфор, сірку.

Водень – структурний та функціональний елемент. В грибній клітині водень складає 6 – 8 % сухої маси міцелію. Вміст вуглецю в міцелії грибів складає в середньому від 40 до 60 % сухої маси. Азот входить до складу білків, амінокислот та інших компонентів клітини. Кисень складає 25 – 35 % сухої маси міцелію. Ці органогенні елементи входять до складу вуглеводів, білків, жирів та інших органічних сполук[13].

Джерелами фосфору для грибів можуть бути органічні (нуклеотиди, нуклеїнові кислоти та ін.) та мінеральні сполуки. З мінеральних сполук переважно використовуються розчинні фосфати, але багато видів грибів можуть використовувати нерозчинні солі фосфатів, котрі перетворюються кислотами, що виділяються грибами, в розчинні солі[13].

Сірка входить до складу сірковмісних амінокислот – метіоніна, цистина, цистеїна, ферментів, трипептида, тіаміна, біотина. Більшість грибів використовують сірку сульфатів. Воно необхідне для росту всіх грибів, а також для утворення комплексів різних сполук з залізом, хелатів, що відіграють важливу роль в живленні грибів, детоксикації проміжних метаболітів та багатьох інших процесів. Цинк активує ряд ферментів. Вміст цинку в живильному середовищі визначає направленість метаболічних процесів грибів[13].

Для росту грибів необхідні також калій та магній. В міцелії та спорах в основному калію міститься більше, ніж інших елементів, він складає 3,5 – 5 % [14].

## 1.2 Живильні середовища для вирощування вищих їстівних грибів

Підбір середовища для культивування гриба залежить від цілі дослідження та біологічних особливостей організму. Більшість грибів використовують найрізноманітніші поживні речовини.

Середовища для культивування грибів за складом інгредієнтів можуть бути:

1) Природні – різноманітні субстрати рослинного та тваринного походження: коренеплоди, зерна злаків, листя, стеблі рослин, органи та тканини тварин. Ці середовища мають складний комплексний вміст, вміщують

амінокислоти, вітаміни та інші складні сполуки. Їх використовують й у вигляді

екстрактів різної концентрації. Найбільш часто в мікології використовують сушений агар.

2) Напівсинтетичні – це комбіновані середовища із природних субстратів та хімічно відомих компонентів. Наприклад, картопляно-декстрозне середовище, вівсяно-глюкозне та ін.

3) Синтетичні – складаються із відомої кількості інгредієнтів. Синтетичні середовища використовуються з ціллю вивчення поживних потреб для росту, споруутворення та синтезу деяких метаболітів. Найбільш широко використовується глюкозо-нітратне середовище (середовище Чапека) з основними мінеральними елементами [15].

Різні комбінації інгредієнтів в синтетичних середовищах та їх концентрацій практично не обмежені та можуть слугувати для з'ясування різноманітних процесів життєдіяльності грибів, пов'язаних з їх ростом, розмноженням та фізіологічною активністю.

Однак частіше за все при вивченні придатності окремих компонентів середовищ для визначених процесів життєдіяльності грибів використовують принцип складання середовищ по співвідношенню та концентрації деяких компонентів. Відповідно цього розрізняють багаті, бідні, збалансовані та дефіцитні середовища. В ідеальному значенні збалансоване середовище складене в такому наборі співвідношень та концентрацій компонентів, які в процесі росту гриба використовуються всі одночасно [13].

Оптимізовані середовища – такі середовища, склад та концентрація компонентів котрих забезпечує визначений максимальний процес життєдіяльності гриба – накопичення біомаси, окремих метаболітів, споруутворення. Для оптимізації складу середовища використовують математичні методи моделювання[13].

По консистенції поживні середовища для культивування грибів розрізняються: рідкі, тверді та напіврідкі. Тверді середовища готуються з

додаванням 2 – 3 % агар-агару до рідкого середовища. Зазвичай тверді середовища використовують для вивчення морфології колоній, отримання типових спороутворень, збереження культур та інших цілей. На рідких середовищах вивчають процеси метаболізму, зміни складу живильного середовища, утворення метаболітів[15].

При складанні синтетичних середовищ необхідна точна характеристика кожного компонента – заміщеність солей, валентність елементів, конфігурація структури, ступінь чистоти, марка виготовлення. Для приготування природних середовищ можна використовувати водопровідну воду, для синтетичних деіонізовану, бідистильовану, що зберігається в посуді з нейтрального скла або кварцу[14].

### 1.3 Штучне культивування вищих їстівних базидіоміцетів

Для направлення процесів росту та біосинтетичної активності грибів суттєве значення має середовище для культивування, рН, концентрація розчинного кисню, концентрація поживних речовин, швидкість росту і т.д. Гриби зазвичай культивують в чистих культурах, дуже рідко в асоціаціях різних видів грибів або інших організмів [16].

Чиста культура – це ізолят одного виду, що характеризується наявністю властивих йому більш або менш типових морфологічних чи культурних ознак. Чисту культуру виділяють шляхом пересіву спор, кінчиків гіф з краю колонії, фрагментів міцелію або плодових тіл[17].

Чисті культури грибів отримують різними методами:

– шляхом безпосереднього виділення зі спороносіїв, що утворюються при рості на різних природних субстратах;

– методом розведення в дистильованій воді визначеного об'єму або наважки субстрату, подальшого кількісного посіву найбільшого розведення в чашки Петрі з живильним середовищем;

– елективний метод виділення чистих культур грибів оснований на використанні спеціальних середовищ і дозволяє виділяти гриби, що володіють конкретними фізіологічними особливостями [18].

Культивування грибів на живильних середовищах проводять двома основними методами: поверхневим та глибинним. При поверхневому методі міцелій гриба в основній масі зростає на поверхні твердого або рідкого живильного середовища.

На рисунку 1.1 показано розвиток міцелію *P. ostreatus* на чашці з солодковим екстрактом після 7 днів інкубації при 22 °С (А). Чашка Петрі була інокульована в центрі, і гриб ріс до країв, заповнивши всю чашку. Справа показані мікроскопічні зображення міцелію з чашки після фарбування клітинних стінок за допомогою калькофлуор білого. Зображення отримані за допомогою флуоресцентного мікроскопа з масштабами 40× (В) та 100× (С)[19].

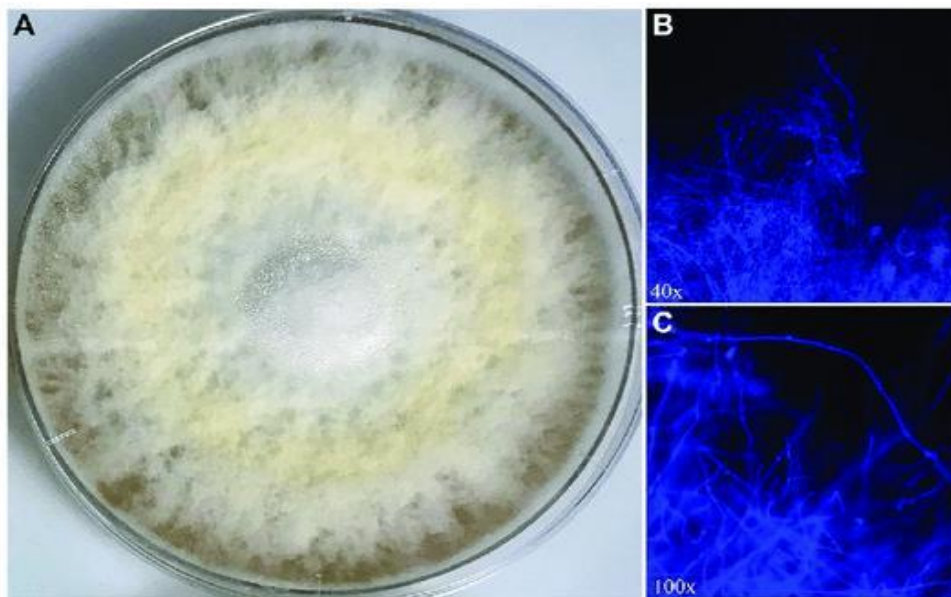


Рисунок 1.1 – Розвиток міцелію *P. ostreatus* на чашці з солодкового екстракту

При глибинному періодичному культивуванні гриб зростає в товщі живильного середовища, яке на протязі часу культивування аерується та перемішується. Глибинний метод культивування може бути періодичним (статичним) та безперервним.

Глибинним методом гриби культивують в колбах на спеціальних качалках і в спеціальних сосудах-ферментаторах, обладнаних пристроями для аерації, перемішування середовища, відбору проб та реєстрації інших показників процесу росту та метаболізму грибів [20].

Глибинне культивування на рідких поживних середовищах являється найбільш економічним процесом, що дозволяє за допомогою створення повністю контрольованих умов досягти максимальних результатів. Значна увага приділяється проблемі глибинного культивування вищих їстівних базидіальних та сумчастих грибів для швидкого отримання у великих кількостях посівного міцелію[20].

При глибинному культивуванні було відмічено позитивний вплив на ріст міцелію дрібнодисперсних компонентів, що не беруть участі в метаболізмі, такі як, наприклад, агар,  $\text{CaCO}_3$  та ін.[21].

Таким чином, очевидно, що в наш час можна вважати доказаною принципову можливість отримання харчової біомаси їстівних грибів шляхом глибинного культивування на рідких комплексних середовищах. Для окремих видів показана висока поживна цінність культурального міцелію, його якісна повноцінність і схожість біохімічного складу з плодовими тілами грибів, що ростуть в природі [22]. Встановлена також можливість шляхом направленою регулювання умов культивування підвищувати вміст білків, вітамінів та інших поживних компонентів в грибниці, а також отримувати біомасу з характерним грибним ароматом [23]. На даний момент можна вважати, що глибинне культивування дає можливість значно прискорити ріст вищих базидіальних грибів. Але, на жаль, в літературі майже відсутні об'єктивні кількісні дані про

швидкість росту, урожай біомаси, економічний коефіцієнт використання вуглеводних субстратів у їстівних грибів в глибинній культурі.

2 Перспективи використання базидіальних грибів для отримання кормових продуктів та біопрепаратів

### 2.1 Кормова цінність грибу *Pleurotus ostreatus*

Глива - "чистий" гриб (рис. 1.2), що не містить пестицидів, нітратів, солей важких металів. Вміст азоту в гливі схожий на горох, фосфору - на рибу, тіаміну - на капусту, біотину - у декілька разів вище, ніж у яйцях і молоці, вітамінів групи В - у 10 разів більше, ніж у інших продуктах харчування. За білками та вуглеводами це - перший серед грибів [24].



Рисунок 1.2 – Глива звичайна

За вмістом білка та амінокислот глива ближче до овочів, ніж до м'яса. Білок гливи містить усі незамінні амінокислоти. Ступінь засвоєння грибного

білка досягає 90%. На основі експериментів показано, що 100–200 г грибів (на суху масу) достатньо для задоволення щоденних харчових потреб людини з масою 70 кг [25].

Останні дослідження вказують, що від 69 до 85% загального азоту у грибах міститься у формі засвоюваного білка. Шапка гливи містить майже удвічі більше білка, ніж ніжка. У молодих та старих грибів білка менше, більше - у грибів із шапкою 5–8 см. Окрім білка, у м'якоті гливи є багато інших цінних для харчування людини речовин. Це повний набір незамінних амінокислот, таких як триптофан, аспарагінова кислота, лізин, аланін, а також вітамінів B<sub>1</sub>, B<sub>2</sub>, B<sub>6</sub>, PP, H, C та інші [26].

По вмісту вітамінів та м'якоть гливи не поступається ржаному хлібу, по вітаміну H - яйцям і молоку. Вітаміну PP у ній стільки ж, скільки його у дріжджах, печінці, а вітаміну B<sub>2</sub> - не менше, ніж у сливковому маслі. Окрім зв'язаних амінокислот у плодових тілах їстівних грибів містяться й вільні амінокислоти, які беруть участь як у синтезі білка живої клітини, так і в інших ланках обміну речовин, забезпечуючи синтез нуклеїнових кислот, нуклеотидів, ферментів, вітамінів та інших речовин [21].

Гриби містять багато мінеральних речовин і ряд жирних кислот, необхідних для людини. Енергетична цінність гливи становить 300 ккал на кілограм [27].

У гливі звичайної вміст загального азоту становить 2,4%, загальних білків – 15%, заліза – 0,0015%, фосфору – 1,35%, калію – 3,79% (від сухої маси) [23].

У складі грибів присутні азотисті речовини, у тому числі білкові сполуки. Азотистих речовин у них більше, ніж у м'ясі, яйцях, горошині, жири вмістяться від 1 до 6%. У складі жирів є необхідні для людини компоненти, такі як ліцетин, провітамін B<sub>5</sub>, а також деякі жирні кислоти. Усі вони добре засвоюються організмом [28].

Найбільше жирів міститься у плодовому шарі шапки, менше – у ніжці. Гриби мають значну кількість екстрактивних речовин, які надають їм різноманітний смак і аромат, а також ферменти, що сприяють кращому перетравленню та засвоєнню їжі. Зазвичай аромат грибів складають складні суміші летких продуктів обміну речовин. Аромат багатьох їстівних базидіоміцетів, включаючи гливу, містить альдегіди, кетони, спирти, серед яких найчастіше визначають октанові похідні, а також групу азотовмісних сполук, які включають прості аміни, амідні, амінокислоти, похідні глютамінової кислоти та інші, які створюють особливий відтінок цього запаху [29].

Зерновий міцелій гливи - типовий альтернативний компонент корму, його використання у годівлі тварин є важливим з декількох позицій. По-перше, у складі міцелію містяться цінні речовини, яких немає у класичних складових раціону; по-друге, у процесі засвоєння зернового субстрату міцелієм відбуваються реакції, зокрема, що поліпшують усвідомлення зерна.

Відомо, що раціон харчування впливає на фізіологічні та біохімічні процеси організму, зокрема на процеси біологічного окислення [30]. Основними показниками окислювальних процесів є окисна модифікація білків (ОМБ), перекисне окислення ліпідів (ПОЛ), які окислюються за рахунок реакцій з активними формами кисню (АФК) і утворюють похідні, а також активність антиоксидантних ферментів, зокрема супероксиддисмутази (СОД) і каталази, які здійснюють утилізацію АФК та запобігають процесам окисної деструкції [31].

Під час культивування міцелію *Pleurotus* на відходах деревообробної та сільськогосподарської промисловості можливе отримання продуктів з високою доданою вартістю - білково-вуглеводних добавок харчової цінності та високоякісних кормів. Однак важливим параметром оцінки якості отримуваних кормових і харчових продуктів є їх безпека в контексті вмісту тяжких металів,

оскільки відомо, що природні умови сприяють накопиченню грибами значних кількостей цих елементів[32].

Після збору плодівих тіл грибів, використаний свіжий, "живий" субстрат, відомий як "мікорм", збагачений повноцінним грибним білком, має властивості високоякісного, ароматного сіна. Експериментальні дослідження показують, що біологічна цінність таких субстратів, одержаних після плодоношення грибів, зростає завдяки підвищенню вмісту амінокислот (зокрема незамінних), мінеральних елементів (таких як магній та залізо) і накопиченню вітамінів (тіаміну, піридоксину, ніацину, біотину та рибофлавіну).

Згідно з статтею[33], годування тваринам таким продуктом призводить до збільшення приросту маси молодняка та зниження захворюваності. Ці літературні дані свідчать про те, що субстрат, одержаний після плодоношення грибів, є джерелом поживних та енергетичних речовин, таких як білки та вуглеводи, а також біологічно активних сполук і мікроелементів.

Грибництво дозволяє використовувати ту частину біологічного врожаю сільськогосподарських культур, яка наразі майже не використовується, для виробництва харчових продуктів. Основна частина цесолома хлібних злаків та відходи від маслинних та технічних культур [34]. Літературні дані свідчать про використання цього субстрату у раціонах для великої рогатої худоби та свиней. Була продемонстрована позитивна динаміка у прирості біомаси телят та поросят.

Додавання субстрату гливи до раціонів молодняка великої рогатої худоби збагачує раціон тварин поживними речовинами, покращує перетравність грубих кормів і сприяє поліпшенню показників крові тварин, зокрема концентрації гемоглобіну та еритроцитів [35].

Кормові добавки на основі відпрацьованих грибних блоків можуть бути використані у раціонах різних сільськогосподарських тварин [36].

Використання субстрату гливи у раціонах молодняку великої рогатої худоби дозволяє збагатити раціон тварин поживними речовинами. Наявність комплексу целюлолітичних та лігнінолітичних ферментів дозволяє припустити можливість покращення засвоюваності грубих рослинних кормів. Додавання молодняку великої рогатої худоби в раціон відпрацьованого субстрату гриба гливи призводить до зростання приросту маси та не впливає негативно на хімічний склад і органолептичні показники м'яса [37].

Сільськогосподарські відходи, зокрема рештки рослин (які містяться в грибних блоках), можуть слугувати потенційним кормом для худоби, але їх низька якість, обмежена кількість фітонутрієнтів та низька засвоюваність роблять їх непридатними для годівлі тварин, особливо в країнах, які розвиваються. Проте, додавання комплексного корму або добавок до корму решток рослин може призвести до отримання високоякісного корму, що ефективно задовольняє потребу в поживних речовинах. Стратегічні підходи до підвищення цінності сільськогосподарських відходів для отримання високоякісних та поживних кормів для тварин також можуть ефективно вирішувати проблеми з продовольством та кормами по всьому світу.

## 2.2 Лікувальна цінність грибу *Pleurotus ostreatus*

У плодових тілах культивованої гливи знаходиться багато біологічно активних речовин, що здатні запобігати та лікувати широкий спектр захворювань. Дослідження показали, що високий вміст чистого білка (до 47,7%) у плодових тілах гливи сприяє запобіганню та лікуванню гепатиту, виразкам шлунка, знижує рівень холестерину в крові, допомагає нормалізувати тиск як у гіпертоніків, так і у гіпотоніків, має протипухлинну дію, підвищує імунну стійкість організму [38].

Глива має також бактерицидну дію, сприяє виведенню з організму токсинів радіоактивних елементів. Спиртові екстракти плодових тіл використовуються для профілактики гіпертонії, тромбофлебіту, атеросклерозу та деяких інших захворювань. Гриби широко застосовуються в дієті для тих, хто бажає схуднути, оскільки вони на довгий час насичують травлення і забезпечують відчуття ситості. При цьому вони мають речовину, яка нормалізує рівень ліпідів в крові, що сприяє зниженню кров'яного тиску та ризику серцево-судинних захворювань [39].

За вмістом жирів глива перевершує всі овочеві культури - 5,4% ліпідів. При цьому значних кількостях присутні стерини, фосфатиди, ефірні масла та поліненасичені жирні кислоти, які не можуть синтезуватися в організмі людини й є незамінними. Ці кислоти забезпечують нормальний ріст тканин і обмін речовин, запобігають відкладенню холестерину. Наступним важливим компонентом є вуглеводи (43,9%). Основна частина, що входить до фракції клітковини, нормалізує діяльність кишкової мікрофлори та сприяє виведенню з організму холестерину й різноманітних токсичних речовин [38].

В цьому грибі містяться органічні кислоти та ферменти, які сприяють розщепленню жирів та глікогену. За вмістом вітамінів глива знаходиться на рівні м'ясопродуктів, а за кількістю пантотенової кислоти перевершує овочі, фрукти, м'ясо, молоко та рибу. За вмістом біотину глива є одним з найбагатших джерел цього вітаміну (8–76 мкг/100 г). Щодо вітаміну РР, який поліпшує кровообіг, запобігає утворенню тромбів у судинах та покращує функцію печінки і шлунку, глива є неперевершеною серед культивованих грибів. Крім зазначених вітамінів, у плодових тілах гливи містяться вітаміни С, , Е [40].

У гливі міститься до 7–8 % мінеральних речовин. Це калій, який регулює роботу серцевого м'яза, фосфор, що бере участь у обміні речовин і є складовою білків і нуклеїнових кислот, залізо, що бере участь у формуванні гемоглобіну та

ряду ферментів, а також кальцій, кобальт, мідь, натрій та інші елементи, необхідні для організму людини.

Глива має антисклеротичну дію. Однією з переваг цього гриба є високий вміст полісахаридів, що відповідають за протиракову дію продукту. За вмістом протипухлинних активних речовин глива займає третє місце після шиїтаке та опенька літнього. У давній японській та китайській літературі говорилося, що регулярне споживання подібного гриба сприяє благотворному впливу на людей, знижує кров'яний тиск і тонізує нервову систему [38]. Зараз медичне застосування гливи не обмежується лише використанням їх у харчуванні. Широко поширене виготовлення лікарських препаратів на їх основі. Зниження рівня ліпідів в крові, протиопухолева активність, антибактеріальні, протипаразитарні та антиалергічні властивості, відновлення функцій нервової системи – це саме ті якості, які роблять гливу незамінним продуктом у нашому раціоні.

Хімічний склад плодових тіл гливи звичайної представлений таким чином: сирій білок – 32,6 %, справжній білок – 22,0 %, зола – 5,4 %, ліпіди – 5,4 %, вуглеводи – 43,9 % [41]. Головною складовою частиною золи плодових тіл гриба є оксиди калію та фосфору. Фосфор входить до складу білків і бере активну участь у енергетичному балансі організму. Калій сприяє підтримці кислотно-лужного балансу організму та регулює вміст води в клітинах [42].

Лікарські гриби привертають увагу як природне джерело біологічно активних речовин широкого спектру терапевтичної дії, зокрема, противірусної [43–44]. Хоча кількість перевірених противірусних препаратів постійно зростає, існуючі ліки не завжди добре переносяться пацієнтами, а віруси адаптуються і з'являються резистентні штами. Основні механізми антивірусної дії полісахаридів природного походження (грибів та рослин) включають індуквання внутрішньоклітинних сигналів прямої вірицидної дії, а також блокування адгезії та проникнення вірусної інфекції до клітин. Зокрема, такий

ефект на вірус герпесу спричинювали полісахаридні фракції шиїтаке (*Lentinula edodes*), білого гриба (*Boletus edulis*) та гливи звичайної (*Pleurotus ostreatus*), а гетерополісахарид із *Grifola frondosa* пригнічував реплікацію, синтез геномного РНК та експресію білка ентеровірусу [45].

Отриманий із екстракту гриба *Pleurotus ostreatus* вуглевод β-глюкан (рис. 1.3), може бути включеним як допоміжна речовина у біопрепарат з чистотою до 93% в готовому продукті [40].

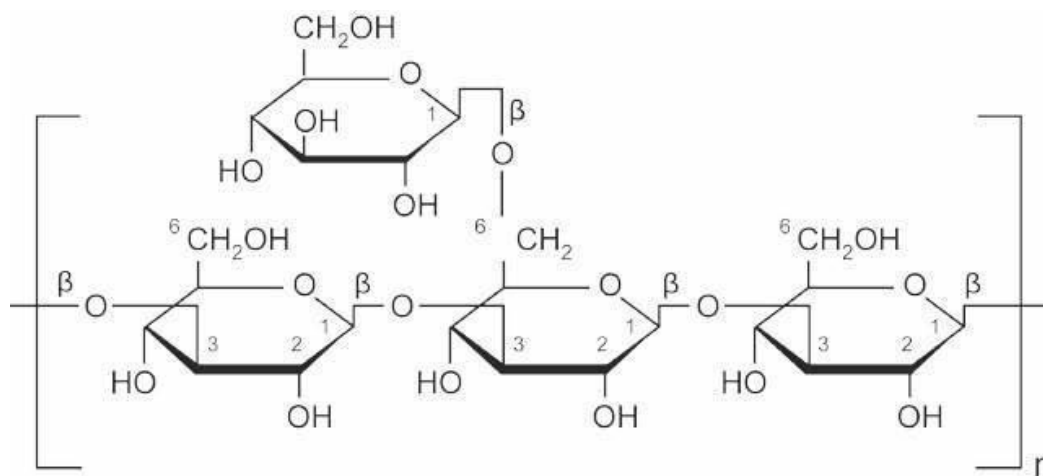


Рисунок 1.3 – Структурна формула β-глюкану

У грибах він представлений у формі комплексу - хітин-глюкан. Цей комплекс майже не засвоюється організмом людини, тому потрібна додаткова обробка температурою та етанолом - екстракція, що призводить до отримання легкозасвоюваної форми β-глюкана. Сам β-глюкан надзвичайно термостійкий і легко переносить як низькі, так і високі температури - навіть години кипіння не руйнують його молекулу [46].

Складний метод екстракції дозволяє досягти виняткової чистоти β-глюкана, а це, в свою чергу, підвищує його високу активність. Процес мікронізації β-глюкана додатково збільшує його ефективність і активність, а отже, й вплив на організм. Оскільки система тонкої кишки пропускає частки до 60 мікронів, необхідно пристосувати розмір часток до цього. Мікронізацією β-глюкана отримують частки з діаметром 5 мікрон. Цим забезпечується його

оптимальна транспорція з травної системи через лімфатичні шляхи до крові, а також підвищується його біоактивність. Гриб *Pleurotus ostreatus*, серед промислово використовуваних грибів, найбільше відповідають виробничим вимогам і мають кращу харчову цінність крім того, глива також має велику кількість харчових волокон, які можуть допомогти регулювати роботу шлунка.

$\beta$ -глюкан, виділений з цих грибів, має високу протипухову та імуномодулюючу дію. Після численних досліджень і випробувань були підтверджені такі властивості  $\beta$ -глюкана:

- протипухлинна дія, важлива підтримка імунної системи під час лікування різних форм онкологічних захворювань;
- підтримка імунної системи при вірусних, бактеріальних, грибкових та паразитарних захворюваннях, а також при фізичних або психічних стресах;
- лікування та профілактика уражень печінки будь-якого походження (вірусних гепатитів В, С, D, J, початкових стадій цирозу, жирової дистрофії);
- успішне лікування алергії;
- лікування та профілактика застудних захворювань та грипу;
- допомагає селективно знижувати рівень LDL (холестерин, тригліцериди);
- володіє радіопротективною дією;
- знімає хронічну втомленість [47].

Активація імунної системи  $\beta$ -глюканом є неспецифічною, що дозволяє використовувати його як профілактичний засіб, а також як допоміжний засіб під час різних захворювань, що супроводжуються загальним зниженням імунітету. Важливим є радіопротективне дія  $\beta$ -глюкана, що свідчить про необхідність його застосування під час хіміо- та радіотерапій, а також під час тривалих рентгенологічних досліджень, для осіб, які проживають в районах з високим рівнем радіації (довгі перельоти, дії ультрависоких частот та інше).

На основі діючої речовини *Pleurotusostreatus*Z-32 існує природній стимулятор росту кореневої системи «Різомакс». Цей інокулянт застосовується для стимуляції росту та розвитку кореневої системи, підвищення поглинання та засвоєння поживних речовин коренями рослин, збільшення корисної площі коренів, зменшення впливу стресових умов на рослину, доставки доступних для рослин мікро- та макроелементів та для боротьби з нематодою. Мікоризні гриби утворюють симбіотичні зв'язки з коренями рослин, збільшуючи поверхневу площу та масу кореневої системи чим поліпшують її поглинальну здатність. Мікоризні гриби отримують від рослини продукт фотосинтезу – глюкозу, натомість рослина отримує більшу кількість вологи, а оскільки мікоризні гриби можуть виділяти з нерухомої частини гумусу поживні речовини, рослина набагато більше отримує в легко засвоюваній формі мікро- та макроелементи, зокрема: азот (амонійний та амінний); розчинені фосфати; калій та інші (Ca, Zn, Mg, S, Fe). Цей біопрепарат має такі властивості:

- сприяє швидкому росту та розвитку кореневої системи;
- покращує структуру ґрунту (водопоглинальну здатність, аерацію, підвищує мікробіологічну активність та збільшує концентрацію доступних поживних речовин у прикореневій зоні, підвищує стійкість до ерозії);
- ефективно зберігає вологу, постачає поживні речовини, накопичуючи їх у міцелії та, при потребі, постачає їх рослині;
- дозволяє рослинам максимально використовувати макро- та мікроелементи, що знаходяться в нерухомій частині гумусу;
- підвищує стійкість до хвороб;
- має токсичну дію щодо ґрунтових нематод;
- сприяє збільшенню врожайності на 3-5% і більше[48].

## ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

### 3 Матеріали та методи дослідження

#### 3.1 Біологічний агент та схема дослідження

Мікробіологічне виробництво базується на культивуванні, спрямованому на отримання максимальної кількості продуктів життєдіяльності мікроорганізмів або мікробної біомаси.

При виробництві мікробної біомаси основним показником культивування є інтенсивність росту та розмноження мікроорганізмів [49].

Для проведення будь-якого мікробного синтезу потрібні активна культура, належне живильне середовище, оптимальні умови культивування і, відповідно до вимог процесу, відповідна апаратура [50].

В даній роботі біологічним агентом дослідження був представник вищих істівних базидіоміцетів – гриб *Pleurotusostreatus* НК-35. *Pleurotusostreatus* – глива звичайна – один з найбільш перспективних видів для штучного вирощування. В системі живих істот даний мікроорганізм має наступну класифікацію:

Царство: *Fungi* (Гриби)

Відділ: *Basidiomycota*

Клас: *Agaricomycetes*

Порядок: *Agaricales*

Сімейство: *Pleurotaceae*

Рід: *Pleurotus*

Вид: *Pleurotusostreatus* - глива звичайна

*Pleurotus ostreatus* НК-35 використовували з метою накопичення грибною біомаси як цільового продукту. Штам потребує подальшого вивчення і тому обраний як об'єкт досліджень в даній роботі.

Широке вирощування гливи в культурі обумовлено багатьма її перевагами в порівнянні з іншими культивованими грибами, а саме:

- дуже висока швидкість росту і розвитку гриба і висока врожайність плодових тіл;
- значна конкурентна здатність по відношенню до сторонніх мікроорганізмів;
- здатність засвоювати живильні речовини з субстратів, приготовлених на основі широкого асортименту дешевих сільськогосподарських відходів і переробляючих виробництв;
- простота і короткі терміни підготовки живильного субстрату і культивування;
- стійкість до хвороб і шкідників;
- щільніша м'якоть плодового тіла і за рахунок цього триваліші терміни зберігання грибів [49].

На життєдіяльність, проходження процесів плодоношення та утворення плодових тіл гливи звичайної впливають такі фактори як температура, світло, вологість, концентрація вуглекислого газу, поживне середовище [51].

Цей гібридний штам грибів є невимогливим до освітлення. Він чудово реагує на субстрат, який підготовлений за методом пастеризації. Якщо дотримуватися технології вирощування, врожайність складе не менше 22%. Зібрані гриби добре зберігаються при температурі +2°C, вони відмінно підходять для будь-якого виду переробки. Цей штам широко використовується у галузі грибництва, належить до штамів інтенсивного типу і може бути використаний як для інтенсивного, так і для екстенсивного вирощування [26].

Глива звичайна містить у плодових тілах до 35% білка на суху масу. Біологічна цінність його перебуває на рівні цінності білка бобових культур і перевищує зерно злаків щодо вмісту таких незамінних амінокислот, як лізин, триптофан та інші. Глива містить до 7-8% мінеральних елементів основну частину яких становить калій і фосфор, а також залізо, кобальт та інші мікроелементи. Плодові тіла містять весь комплекс вітамінів групи В, за деякими з них (біотином, ніацином) вони не поступаються дріжджам і значно перевищують яйця, молоко та багато овочів. Ці гриби містять також вітаміни С, і Е, незамінні для людини ненасичені жирні кислоти й цілий ряд біологічно активних речовин[2].

Міцелій гливизвичайної стійкий до підвищеної концентрації вуглекислого газу в повітрі до 3%. Необхідність у вентиляції повітря виникає лише тоді, коли необхідно понизити температуру субстрату. Вологість повітря утримують на рівні 80-90% [52].

Середовище повинно містити в достатній кількості азот, вуглець, різні мінеральні домішки, вітаміни і забезпечувати нормальні умови для життєдіяльності гриба[53].

Розгалужена структура гіф у субстраті сприяє просторовому переміщенню поживних речовин, у тому числі важких сполук. Плодові тіла грибів мають щільну, пружну структуру, добре переносять транспортування на велику відстань. Шапки характеризуються округлою (або овальною) формою діаметром від 4 до 10 см і більше. Колір тіл, в залежності від умов культивування, коливається від сіро-блакитного до сіро-коричневого. При низьких температурах він більш насичений і темний. Структура м'якоті штаму НК-35 дуже м'яка та соковита. Гриби ніжні на смак, приємної консистенції, не волокнисті. Характерними особливостями є наявність невеликих темніших смужок, що проходять від центру до краю шапки, висока врожайність та виділення відносно невеликої кількості спор[54].

В дослідницькій роботі запропоновано проводити ферментативний гідроліз полісахаридів, які знаходяться у борошні та мучці за допомогою ферментативних препаратів «Альфалат» (активність  $\alpha$ -амілази 1900 од/мл) та «Глюталат» (активність глюкоамілази 5800 од/мл). Препарати виробляються в Україні Ладижинським заводом біо- та ферментних препаратів «Ензим».

$\alpha$ -амілаза ( $\alpha$ -1,4-глюкан-4-глюкангідролаза) є ендоамілазою, яка викликає гідролітичне розщеплення  $\alpha$ -1,4-глікозидних зв'язків всередині високополімеризованого субстрату. Фермент вивільнює глюкозу в  $\alpha$ -мутамірній формі. Діючи на ціле крохмальне зерно,  $\alpha$ -амілаза атакує його, розпушуючи поверхню і утворюючи канали і борозенки, тобто нібито розколюючи зерно на частинки. Клейстеризованні крохмаль гідролізується нею з утворенням продуктів, які забарвлюються йодом. В основному ці продукти складаються з низькомолекулярних декстринів. Процес гідролізу крохмалю багатостадійний. В результаті впливу  $\alpha$ -амілази на перших стадіях процесу в гідролізаті накопичуються декстрини, а потім з'являються тетра- і тримальтоза (вони вже не знебарвлюються йодом), котрі дуже повільно гідролізуються  $\alpha$ -амілазою до ди- і моносахаридів [55].

Глюкоамілаза ( $\alpha$ -1,4-глюкан глюкогідролаза) широко розповсюджена у природі. В літературі фермент відомий під різними назвами: амілоглюкозидаза,  $\gamma$ -амілаза, кисла мальтоза, матулаза, така-амілаза В і екзо-1,4-  $\alpha$ -глюкозилаза. Глюкоамілаза каталізує послідовне відщеплення кінцевих залишків  $\alpha$ -D-глюкози з нередукуючих кінців субстрату. Це фермент із екзогенним механізмом дії на субстрат. Особливістю глюкоамілаз є здатність у десятки разів швидше гідролізувати високополімеризований субстрат, ніж оліго- і дисахариди [56].

Програма досліджень була розроблена для досягнення визначеної мети. Розроблена методика, яка включає організацію та проведення лабораторних експериментів з культивування грибу *Pleurotus* на різних субстратах, що містять крохмаль.

Дана магістерська робота проводилась за наступною схемою для отримання біомаси грибу *Pleurotus* НК-35 (рис. 3.1):

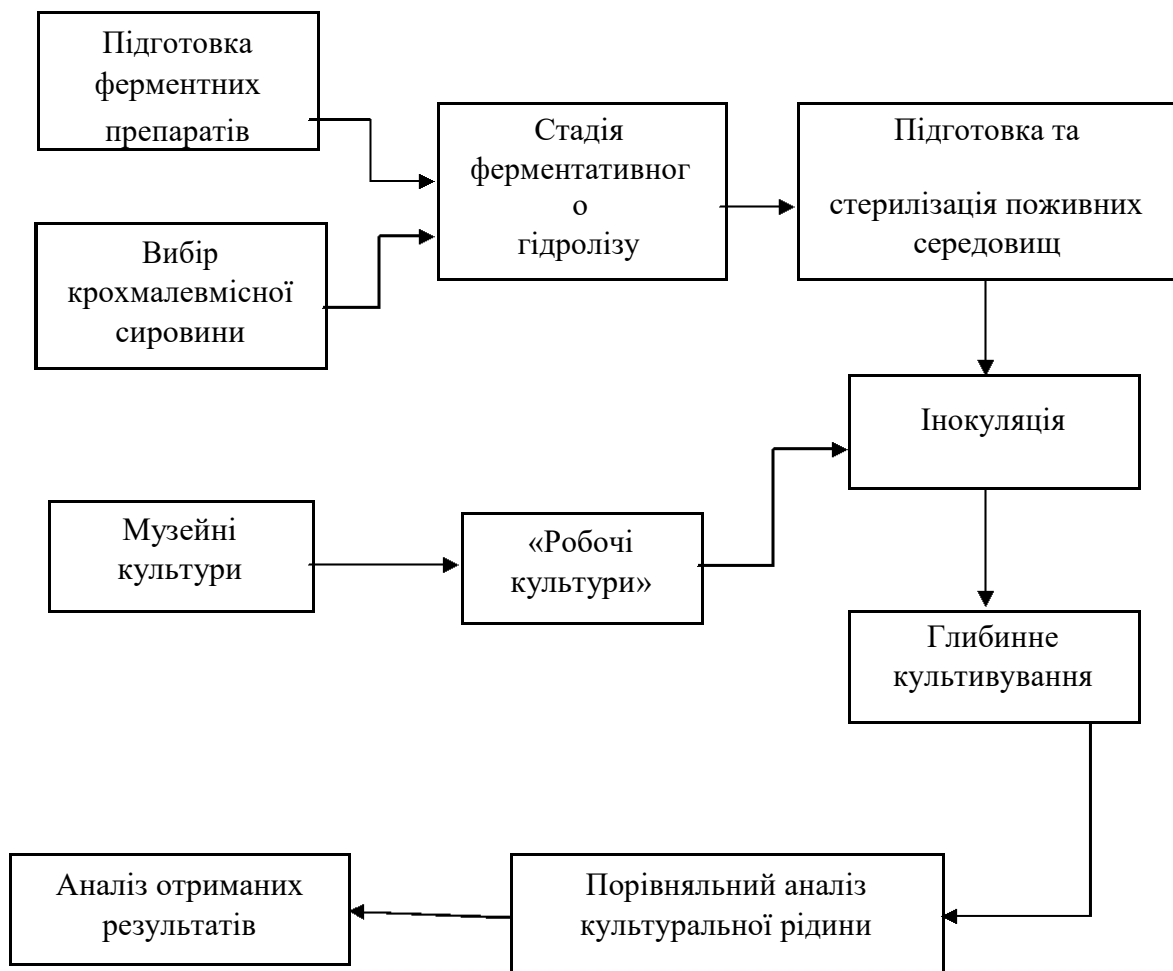


Рисунок 3.1 – Схема отримання біомаси грибу *Pleurotus* НК-35

### 3.2 Методи дослідження

В першій частині експерименту для відбору найактивнішого їстівного грибу *Pleurotus* за ростовими показниками ми вирощували 9 штамів *P. ostreatus* із музейної колекції кафедри на картопляному агарі з додаванням 2% глюкози у чашки Петрі протягом 10 діб при температурі 28 °С. Для відбору варіантів грибів з найвищою швидкістю лінійного росту ( $V$ ) та ростовим коефіцієнтом

(РК) з 10-добових поверхневих культур робили однакові стандартні блочки стерильним металевим циліндром діаметром 0,8 см. Блочки розташовували в центрі чашки Петрі з картопляним агаром та інкубували 6 діб при 28 °С. Контролювали в динаміці ростові показники кожного штаму, вимірюючи діаметр колонії в 3-х перпендикулярних напрямках та розраховували V та РК за формулами (3.1, 3.2) [47]:

$$V = \frac{S \cdot h}{2}, \quad (3.1)$$

де S – діаметр колонії; мм;  
t – час культивування, доба.

$$RК = \frac{d}{t}, \quad (3.2)$$

де d – діаметр колонії, мм;  
h – висота колонії, мм;  
t – вік колонії, год.

У другій частині дослідження нами було запропоноване середовище, де в якості джерела вуглецю використовували вівсяне, гречане, кукурудзяне, пшеничне, житнє борошно та пшенична мучка, а в якості джерела азоту обрали соєве молоко та глютен. Контрольне середовище було екстрактно-патоковим з крохмале-патокового виробництва у якості джерела вуглецю; у якості джерела азоту взяли також глютен та соєве молоко.

Борошно вівсяне та овес мають менше крохмалю та більше жиру. Вони містять всі незамінні амінокислоти, вітаміни групи В, Е, А, ефірну олію, мідь, цукор і ряд мікроелементів, включаючи кремній.

У ядрі гречки багато мікроелементів таких як: залізо, фосфор, мідь. Також ядро багате на вітаміни , РР, Р.

У кукурудзяному борошні присутні цукри, вітаміни групи В та РР, а також мінеральні солі калію, заліза, фосфору, кальцію, магнію та крохмаль. За своїми поживними та корисними властивостями, це борошно перевершує пшеничне та інші види борошна.

В пшеничному борошні основним вуглеводом є крохмаль, що складає до 75% і більше в цьому продукті. Вміст азотистих речовин у борошні становить 12-15%, причому головними з них є білки. Підвищений вміст жиру в пшеничному борошні є характерною ознакою його менш якісних видів.

Пшенична мучка містить 87% сухої речовини, 14% сирого протеїну, 3,2% сирого жиру, 4,8 % сирі клітковини і 2,9% золи.

Житнє борошно виготовляється в процесі помелу зерен жита. До складу входять кальцій, фосфор, магній, залізо, вітаміни , , РР.

Екстрактно-патокове середовище - це рідинне середовище, яке складається з екстракту рослинного матеріалу, такого як зерно, кукурудзяні патоки або інше органічне джерело, що містить велику кількість цукрів, а також інших поживних речовин.

Соєве молоко містить цінний соєвий білок (близько 35%), в якому знаходяться всі вісім незамінних амінокислот, а також мікроелементи. Соєве молоко багате на ненасичені та поліненасичені жирні кислоти.

Глютен (лат. gluten — клей) — термін, який об'єднує групу запасуючих білків, що були знайдені в зернах злакових рослин, таких як пшениця, овес, жито та ячмінь. Функціональні властивості глютену заключаються у високій (до 300%) адсорбційній дії, утворенні стабільної пружно-еластичної структури и термостійкості при температурі до 85°C[57].

Другий етап у дослідженні - створення живильного середовища для отримання чистої культури грибів роду *Pleurotus*. Він включав в себе підготовку спеціального середовища з необхідними харчовими компонентами, які стимулюють ріст і розвиток цих грибів. Цей етап дозволяє вирощувати чисті,

вільні від забруднень культури грибів, що є важливим для подальших досліджень.

Для поверхневого вирощування культури гриба використовували агаризоване середовище, що вміщувало відвар пшениці. Для цього ми 250 г пшениці залили водопровідною відстояною водою в кількості 1,5 л. Проварили протягом 30 хв після закипання, періодично мішаючи; крупу злили. Отриманий пшеничний відвар довели до 1,5 л рН становив 6,7-6,8. Внесли агар-агар з розрахунку 2 - 2,5%. Середовище простерилізували протягом 40 хвилин при 1,2 атм[58].

Потім середовище нагріли на водяній бані до повного його розчинення. Потім агаризоване середовище розлили в стерильні чашки Петрі (попередньо додавши антибіотик стрептоміцин) та в пробірки по 10 мл для засіву косяків.

Процес виділення чистої культури гриба гливи звичайної включав наступні кроки:

- видалення залишків субстрату з плодового тіла, таких як рослинні залишки та ґрунт;
- промивання спочатку проточною, а потім стерильною водою швидким способом, щоб уникнути насичення плодового тіла водою;
- осушення стерильним фільтрувальним папером;
- протирання сухого плодового тіла стерильною марлею, змоченою 96%-ним етиловим спиртом;
- видалення верхньої частини стерильним скальпелем;
- виймання внутрішньої частини плодового тіла з більш глибоких шарів, а потім перенесення її стерильним пінцетом на тверде живильне середовище у чашку Петрі. Розмір отриманого інокульованого шматочка становить 1-1,5×1-1,5 см.

Усі ці операції проводились в стерильних умовах над полум'ям спиртівки для запобігання забруднення.

Чашки Петрі тримались у термостаті протягом 15 днів при температурі 26-28°C. Після того, як шматочки покрились білим ватоподібним міцелієм, чисті культури були готові для пересадки на свіже живильне середовище. Тому ми виконали пересадку з чашок Петрі в пробірки з агаризованим середовищем, що містить пшеничний відвар, зі скошеною поверхнею. Після посіву пробірки розмішувались у термостаті 5-7 днів за температури 28°C. Цей процес призводить до отримання "робочих косяків". Також, використовуючи музейні культури, ми також провели пересадку як у чашки Петрі, так і в мікробіологічні пробірки для отримання "робочих косяків".

Приготували розчини ферментів із встановленою концентрацією. І далі проводили ферментативний гідроліз крахмалевмісної сировини.

Порядок процедур для підготовки середовища для експериментальних ферментаційних колб з використанням різних видів борошна та пшеничної муки такий. У колбу об'ємом 250 мл додаємо 8 г борошна, наливаємо 100 мл води і ставимо на водяну баню, де заварюємо протягом 30-40 хв при температурі 90 – 95°C, постійно перемішуючи. Потім залишаємо охолоджуватися і вводимо 100 мл ферменту  $\alpha$ -амілази з розведенням 1:2000 (активність ферменту  $A=1900$  од/мл) та 3 мл ферменту глюкоамілази з розведенням 1:200 (активність ферменту  $A=5800$  од/мл). Після цього утримуємо колбу при температурі 60°C у термостаті електричному сухому-повітряному ТС – 80 М.

З приготованих середовищ відібрали по 19 мл гідролізату, де вміст цукрів дорівнює 0,15 %, додали 45 мл глютену та довели водою до 150 мл. Розливали в три ферментаційні колби по 50 мл, попередньо довівши рН до 6,5 – 6,8. Кожну колбу стерилізували при 1,1 атм та температурі 120 °C 45 хв.

При використанні соєвого молока у якості джерела азоту послідовність приготування середовищ аналогічна. Відібрали по 19 мл гідролізату, далі додали 75 мл соєвого молока, де вміст азоту рівний 0,22 % та довели водою до 150 мл. В даному випадку одержали середовище, що містить соєве молоко

розбавлене в 2 рази. Розлили в три ферментаційні колби по 50 мл та піддали термічній обробці паровому електричному стерилізаторі ВК - 75.

Отримане живильне середовище розливали у колби об'ємом по 50 мл та піддавали стерилізації під тиском 1,1 атм протягом 45 хв.

Потім стерильно провели пересадку міцелію гриба з живильного середовища у качалочні колби з рідким живильним середовищем у співвідношенні 1 "робочий косяк" на 50 мл живильного середовища. Для пересадки необхідно було з мікологічним гачком роздрібнити міцелій гриба разом з агаром у пробірці і такий посівний матеріал перенести в колби. Засіяні колби помістили на лабораторну міні-качалку УВМТ-12-250, де температура культивування становила 26-28°C, режим перемішування складав 200-220 об/хв, а термін культивування - 5 днів.

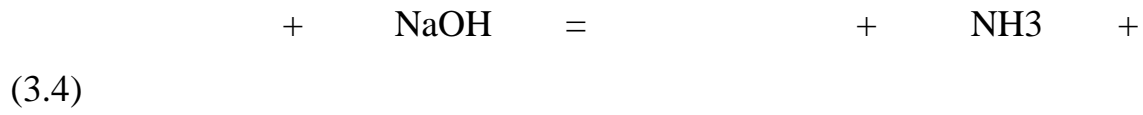
Після завершення ферментації, культуральну рідину відділяли шляхом центрифугування на настільній центрифугі Т-23 з обертовою швидкістю 3000 об/хв протягом 10 хв у спеціальних сталевих стаканах із фільтрувальною перегородкою, на яку кладеться капроновий фільтр. Сиру біомасу вирощеного міцелію перенесли у бюкс та помістили у сушильну електричну круглу шафу 2В-151. Вона висихала при температурі 105°C, і після охолодження бюкси зважували для визначення отриманої маси сухого міцелію.

Визначали вміст сирого протеїну в отриманій грибній біомасі за методом Кельдаля. Метод Кельдаля заснований на здатності органічних речовин при нагріванні сірчаною кислотою окислюватися до вуглекислоти і води, а азоту – переходити в аміак [58].

У рівнянні (3.3) наведено як випаровуються вуглекислий газ, сірчаний ангідрид і вода, а аміак утворює сірчаноокислий амоній:



Аміак з розчину витісняють шляхом додавання до нього міцного лугу за рівнянням (3.4):



Останній утворюють 0,1 N розчином сірчаної кислоти, яку в приймальну колбу беруть з надлишком. В кінці аналізу надлишок сірчаної кислоти визначають шляхом титрування розчину 0,1 N розчином NaOH або KOH.

Знаючи, що 1 мг 0,1 N розчину сірчаної кислоти зв'язує 0,0014 г азоту аміаку можна розрахувати вміст цього елементу у біомасі. Для обчислення кількості сирого протеїну у біомасі вміст азоту помножують на коефіцієнт 6,25, оскільки в середньому в сирому протеїні кількість азоту складає 16 % ( $100:16 = 6,25$ ).

На аналітичних вагах в пробірці зважили близько 1 г біомаси і перенесли наважку в колбу Кельдаля місткістю 100 – 250 мл, прагнучи висипати біомасу гриба на дно судини.

В колбу налили 15 мл концентрованої сірчаної кислоти для вимивання частинок біомаси, які залишилися на внутрішніх стінах колби. Щоб підвищити точку кипіння суміші, додали 3 г сірчаноокислого калію, а як каталізатор використовували 0,5 г сірчаноокислої міді.

В витяжній шафі вміст колби спочатку нагрівали на слабкому вогні. Після початкового закипання рідини, збільшували нагрів, проте процес спалювання вважається завершеним, коли рідина стає прозорою або зеленуватою, а всі частинки, що обвуглилися, зникають.

Після охолодження у колбу з промивалки потрібно було додавати дистильовану воду невеликими порціями, а зміст колби обполіскувати, переносячи його у відгонну плоскодонну конічну колбу Ерленмейєра об'ємом 0,5 – 0,8 л (зберігаючи увесь вміст). Для обполіскування колби Кельдаля слід використовувати 200-250 мл промивної води.

У приймальну конічну колбу об'ємом 200-250 мл необхідно було виміряти за допомогою піпетки 50 мл 0,1 N сірчаної кислоти. Цю колбу розмістили під

водяний холодильник апарата для відгонки аміаку. Кінець холодильника повинен бути поглиблений у розчин сірчаної кислоти, який знаходиться у колбі.

Для відгону аміаку у перегінну колбу з мірного циліндра швидко долили 60 мл 40% водного розчину NaOH і тут же закрили гумовою пробкою з каплеуловлювачем, що з'єднаний з водяним холодильником. Потім легким обертальним рухом перемішали вміст відгінної колби, увімкнули холодильник і на електричній плиті почали відгін аміаку.

Для контролю лужної реакції в перегінній колбі можна використовувати зміну забарвлення розчину. У лужному середовищі сірчаноокисла мідь, що використовується як каталізатор, переходить у окисел міді, забарвлюючи розчин у бурий колір. Коли вміст відгінної колби на дві третини перейде у приймальну, що зазвичай займає 25-30 хв, аміак майже повністю перейде у приймальну колбу.

Повну відгонку аміаку можна визначити, змочивши червоний лакмусовий папір краплями, що стікають з кінця холодильника. Якщо папір не змінює колір на синій, відгонку закінчують. Потім кінець холодильника, який був над приймальною колбою, обмивали невеликою кількістю дистильованої води, а вміст відгінної колби виміряли за допомогою бюретки 0,1 N розчином NaOH, додавши кілька крапель індикатора Таширо до досягнення переходу від рожевого кольору до прозорого[58].

Для визначення сирого протеїну необхідно обчислити кількість зв'язаного розчину, віднявши кількість 0,1 N від кількості 0,1 N NaOH, яка була витрачена на титрування. Кількість азоту обчислюють, помноживши кількість зв'язаної кислоти на 0,0014 (1 мл 0,1 N зв'язує лише 0,0014 г азоту). Відсоток "сирого" протеїну розраховують за формулою (3.5):

$$X = \frac{A \cdot 100}{X}, (3.5)$$

де А – кількість сирого протеїну;

X – маса наважки біомаси гриба.

### 3.3 Статистична обробка експериментальних даних

Статистичну обробку даних проводили за допомогою програми Microsoft Excel з використанням методів математичної статистики, які розроблено для малих вибірок. Розраховували середні арифметичні значення, середні квадратичні відхилення, коефіцієнти кореляції, критерій Стьюдента [59].

Усі статистичні відмітки виконувались з надійністю 95%.

Визначали середнє арифметичне  $\bar{x}$ , як більш вірогідне значення  $x_i$  вимірюваної величини за формулою (3.6):

$$\bar{x} = \frac{\sum x_i}{n}, \quad (3.6)$$

де  $\Sigma$  – знак суми;

$x_i$  – результат окремого спостереження;

$n$  – кількість варіантів.

Довірчий інтервал (3.7):

$$\Delta = m \cdot t_{0,05}, \quad (3.7)$$

де  $m$  – похибка середнього арифметичного;

$t_{0,05}$  – критерій Стьюдента для рівня визначеності 0,05.

З метою кількісної оцінки мінливості розраховували середнє квадратичне відхилення за формулою (3.8):

$$\sigma = \sqrt{\frac{\sum (x_i - \bar{x})^2}{n}}, \quad (3.8)$$

де  $\sigma$  – середнє квадратичне відхилення;

$x_i$  – результати окремого спостереження;

– середнє арифметичне;

n– кількість спостережень.

Середню квадратичну похибку визначали за формулою (3.9):

$$= , \quad (3.9)$$

де m– середня похибка;

– середнє квадратичне відхилення;

n– кількість варіантів.

Коефіцієнт кореляції (3.10):

$$z_{xy} = \frac{\sum_{i=1}^n |x_i - \bar{x}| \cdot |y_i - \bar{y}|}{\sqrt{\sum_{i=1}^n |x_i - \bar{x}| \cdot \sum_{i=1}^n |y_i - \bar{y}|}}, \quad (3.10)$$

де  $x_i$  - значення першої ознаки;

$y_i$  - значення другої ознаки;

$\bar{x}$  - середнє арифметичне значень першої ознаки;

$\bar{y}$  - середнє арифметичне значень другої ознаки.

Якщо  $z=0$  — зв'язок між ознаками відсутній. Якщо  $z=1$  — зв'язок великий перетворюється на функціональний. Абсолютна величина коефіцієнту кореляції не виходить за межі інтервалу від 0 до 1:

$$0 \leq |z_{xy}| \leq 1;$$

чим ближче  $z$  до 0 — зв'язок слабкіший, чим ближче  $z$  до 1 — зв'язок тісніший.

Розраховали достовірність результату за формулою (3.11):

$$\frac{t}{t_{\alpha}},$$

(3.11)

де  $\bar{x}$  – середнє арифметичне дослідів;

$\bar{y}$  – середнє арифметичне контролю;

- середня квадратична похибка досліду;
- середня квадратична похибка контролю[59].

Згідно математичної обробки експериментальних даних коефіцієнт кореляції дорівнює 0,85, що вказує на позитивний зв'язок між концентрацією гідролізатів із виходом грибною біомаси.

#### 4 РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

Сьогодні промислове культивування їстівних грибів є потужною собою індустрією, яка поєднує в традиційні риси сільського господарства та зв'язку сучасної біотехнології. У з глобальним дефіцитом білка в світі

актуальними є питання пов'язані з розробкою методів та підходів, що забезпечують активацію росту, розвитку грибів та підвищують їх врожайність.

Дослідження проводили на базі кафедри мікробіології, вірусології та біотехнології Дніпровського національного університету імені Олеся Гончара.

#### 4.1 Порівняльна характеристика колекційних штамів *Pleurotostreatus* для проведення дослідницької роботи

З метою відбору найбільш активних варіантів їстівних грибів за ростовими показниками з музейної колекції кафедри *Pleurotostreatus* перевірено 9 штамів на здатність грибів рости на картопляному агаризованому середовищі з глюкозою (ГКА– глюкозо-картопляному агарі). Відбір проводили в процесі поверхневого культивування штамів на агаризованому середовищі на чашках Петрі. Із колекційних штамів *P. ostreatus* в роботу були взяті такі штами:

Китайський чорний, 431, 357, Н–27, 410, 501, 107, FN (наведені умовні позначення штамів). Для порівняння результатів досліду у експерименті ще було залучено штам гриба НК–35, який широко представлений в науковій літературі. Порівняльна характеристика штамів проводилась за ростовими показниками, а саме за швидкістю лінійного росту (V) та ростовим коефіцієнтом (РК) (розрахункові формули наведені в пункті 3.2 даної роботи). Отримані результати представлені в таблиці 4.1.

Таблиця 4.1

#### Відбір активних варіантів їстівних грибів *Pleurotostreatus* із колекції культур кафедри

Штам	3 доба (72 год)	5 доба (120 год)	7 доба (168 год)
------	-----------------	------------------	------------------

<i>P. ostreatus</i>	Діаметр колонії, мм $X \pm m$	V мм/доба	РК	Діаметр колонії, мм $X \pm m$	V мм/доба	РК	Діаметр колонії, мм $X \pm m$	V мм/доба	РК
НК-35	37,7±3,2	12,57	1,05	73,3 ± 0,9	14,66	1,83	92,0±0,01	13,14	1,64
Китайський чорний	29,7±2,0	9,90	0,83	58,0±3,50	11,60	0,97	83,7±0,70	11,96	1,49
431	23,7±2,2	7,90	0,33	50,7±3,40	10,14	1,27	75,7±2,30	10,81	1,35
357	30,7±2,8	10,20	0,85	58,3±2,40	11,60	0,97	82,7 ± 1,5	11,81	1,48
FN	30,7±2,3	10,20	0,85	65,7±5,90	13,14	1,09	87,0±0,01	12,43	1,55
H-27	36,0±3,1	12,00	1,00	60,31±4,0	12,06	1,00	84,3±0,70	12,04	1,49
410	37,7±1,8	12,57	1,05	68,0±1,50	13,60	1,70	87,0±0,01	12,43	1,55
501	34,3±0,9	11,43	0,95	71,7±2,40	14,34	1,79	85,0±0,01	12,14	1,52
107	16,7±2,0	5,50	0,23	31,3 ± 3,2	6,26	0,26	50,0±2,50	7,14	0,59

Примітка: різниця достовірна у порівнянні з контролем

Дані таблиці свідчать, що максимальну швидкість лінійного росту на 3 та 5 добу мав штам НК-35 (12,57 мм/доба та 14,66 мм/доба відповідно). Починаючи з 7 доби деякі значення V та РК помірно знижувалися. Штами грибів НК-35, 410, 501 за п'ять діб спостереження випереджали розвиток інших шести штамів за ростовими показниками. Так, у штамів 357, 431, 107, китайський чорний швидкість росту продовжувала збільшуватися і на 7 добу включно. Проте, для 3 штамів грибів НК-35, 410, 501, які характеризувалися найвищим РК (1,83; 1,70; 1,79) на 5 добу, на 7 добу ростові показники V та РК повільно знижувалися. Так як штам НК-35 має найвищі показники швидкості росту та ростовий коефіцієнт на 3 та 5 добу, то саме цей штам був обраний для вивчення впливу різних джерел азоту на його ростові показники, а саме на вміст у ньому протеїну та накопичення сухої біомаси.

Важливо спостерігати розвиток гриба в часі, тобто спостерігати порівняльну динаміку розвитку *P. ostreatus*, яка представлена на рисунку 4.1.

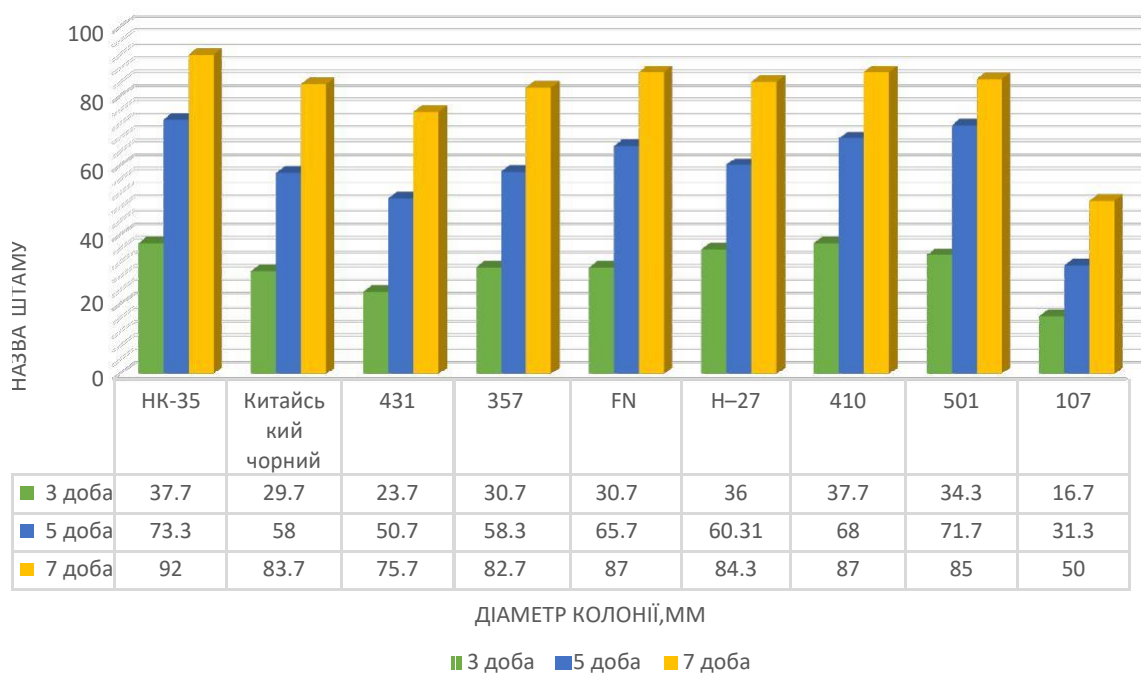


Рисунок 4.1 - Порівняльна характеристика динаміки розвитку різних колекційних штамів *Pleurotus ostreatus*.

Представлена діаграма свідчить, що вже на третю добу найбільший розмір поверхневої колонії спостерігався у таких штамів, як НК-35, 501 та 410. На п'яту добу росту виявлена закономірність зберігалась. Найбільший діаметр колонії на 3 та 5 добу спостерігався у штаму НК-35.

Таким чином, за цими результатами для подальших досліджень із колекції музейних культур кафедри обраний штам НК-35, який також широко задіяний в дослідницьких роботах різних авторів [26, 60].

#### 4.2 Вплив різних джерел азоту на вміст протеїну та накопичення сухої біомаси у штама *Pleurotusostratus* НК-35

В даних дослідженнях був проведений підбір оптимальних середовищ та джерела вуглецю і азоту для вирощування біомаси вищого їстівного грибу – гливи звичайної (*Pleurotusostratus*).

Контрольним середовищем являється екстрактно-патокове. Вміст азоту в екстракті становить 0,24 %, вміст цукрів в зеленій патоці – 0,15 %. В дослідних середовищах джерелами вуглеводів були продукти борошномельного виробництва, які попередньо підлягали ферментативній обробці. Вміст цукрів складав 0,15 %. В якості джерела азоту використовували глютен, який містить 0,22 % азоту.

Також проводилися дослідження щодо визначення оптимального середовища для вирощування гриба *Pleurotusostratus*, яке в якості джерела азоту містить соєве молоко, розведене в 2 рази.

Отримані дані виходу біомаси та вмісту протеїну занесені до таблиці 4.2, де в якості джерела азоту використовувався глютен.

Таблиця 4.2

#### Вплив глютену на розвиток гриба *Pleurotusostratus* НК-35

Назва досліджу	Кількість повторів	Суша біомаса в культуральній рідині, г/100 мл	Вміст протеїну, %
1	2	3	4
Контрольні колби (екстрактно-патокове середовище)	1	1,640	50,36
	2	1,672	53,84
	3	2,382	54,50
Середнє значення		1,890±0,0945	52,90±2,645
Гідролізат кукурудзяного борошна	1	2,500	59,15
	2	2,250	57,56
	3	2,838	57,44

## Продовження таблиці 4.2

1	2	3	4
Середнє значення		2,528±0,1264	58,05±2,900
Гідролізат гречаного борошна	1	2,785	60,14
	2	2,895	59,88
	3	3,093	59,68
Середнє значення		2,924±0,1465	59,90±2,901
Гідролізат пшеничного борошна	1	3,258	62,96
	2	3,570	64,15
	3	3,180	59,97
Середнє значення		3,336±0,1668	62,36±3,119
Гідролізат пшеничної мучки	1	2,78	52,14
	2	2,204	54,29
	3	2,300	54,52
Середнє значення		2,428±0,1214	53,65±2,682
Гідролізат вівсяного борошна	1	2,22	55,17
	2	1,900	57,95
	3	2,624	55,04
Середнє значення		2,194±0,1097	56,05±2,803
Гідролізат житнього борошна	1	2,317	54,96
	2	1,900	55,24
	3	2,629	55,28
Середнє значення		2,282±0,1097	55,16±2,839

З даних таблиці видно, що найбільший вихід біомаси гриба *Pleurotusostreatus*, де в якості джерела азоту використовували глютен, було отримано на середовищі з гречаного гідролізату – 2,924 г/100 мл, що на 1,034 г більше, ніж на контрольному середовищі. В порівнянні з іншими середовищами: на 0,396 г більше, ніж на кукурудзяному гідролізаті; на 0,924 г більше, ніж на пшеничному гідролізаті; на 0,496 г більше, ніж на гідролізаті мучки; на 0,73 г більше, ніж на вівсяному гідролізаті та на 0,642 г більше, ніж на житньому гідролізаті. Найбільший вміст протеїну також спостерігався на середовищі з гречаного гідролізату, а саме – 59,9 %.

Отримані дані виходу біомаси та вмісту протеїну занесені до таблиці 4.3, де в якості джерела азоту використовувалося соєве молоко.

Вплив соєвого молока на розвиток гриба *Pleurotostreatatus* НК-35

Назва досліджу	Кількість повторів	Суша біомаса в культуральній рідині, г/100 мл	Вміст протеїну, %
1	2	3	4
Контрольні колби (екстрактно-патокове середовище)	1	1,878	37,43
	2	1,566	38,53
	3	1,798	37,29
Середнє значення		1,746±0,0873	37,75±1,958
Гідролізат кукурудзяного борошна	1	2,224	43,62
	2	2,006	39,96
	3	1,810	42,09
Середнє значення		2,012±0,1006	41,89±2,094
Гідролізат гречаного борошна	1	2,080	42,13
	2	1,790	40,27
	3	2,100	40,9
Середнє значення		1,986±0,0993	41,10±2,055
Гідролізат пшеничного борошна	1	1,878	40,23
	2	1,798	44,45
	3	1,545	39,58
Середнє значення		1,740±0,0857	41,42±2,072
Гідролізат пшеничної мучки	1	2,166	45,06
	2	2,046	43,89
	3	1,912	44,04
Середнє значення		2,040±0,1020	44,33±2,216
Гідролізат вівсяного борошна	1	1,996	36,85
	2	1,908	38,51
	3	1,950	41,25
Середнє значення		1,952±0,0976	38,87±1,943
Гідролізат житнього борошна	1	2,224	41,26
	2	1,810	43,87
	3	1,972	45,43
Середнє значення		2,002±0,1015	43,52±2,176

За результатами у таблиці видно, що найбільший вихід біомасигриба *Pleurotostreatatus*, де в якості джерела азоту використовували соєве молоко, спостерігався на гідролізаті з пшеничної мучки– 2,040 г/100 мл, що на 0,294 г

більше, ніж на кукурудзяному гідролізаті; на 0,054 г більше, ніж на гречаному гідролізаті; на 0,3 г більше, ніж на гідролізаті з пшеничного борошна; на 0,088 г більше, ніж на вівсяному гідролізаті; на 0,038 г більше, ніж на житньому гідролізаті. Найбільший вміст протеїну також спостерігався на середовищі з гідролізату пшеничної мучки, а саме – 44,33 %. В порівнянні з контрольним середовищем це значення більше на 6,58 %; кукурудзяним гідролізатом – 2,44 %; гречаним гідролізатом – 3,23 %; пшеничним гідролізатом – 2,91 %; вівсяним гідролізатом – 5,46 %; житнім гідролізатом – 0,8 %.

Аналізуючи таблиці 4.2 та 4.3, робимо висновок, що глютен є більш перспективним джерелом азоту для гливи. Тому що на поживних середовищах, що вміщували ферментативні гідролізати різних продуктів борошномельного виробництва з глютенем більш високі показники, ніж на середовищах з соєвим молоком.

Грибна біомаса, отримана у дослідах при використанні соєвого молока, мала виражений грибний смак та аромат, що не спостерігалось при застосуванні різних комбінацій джерел вуглецю та глютену. Це може свідчити про те, що саме комбінація соєвого молока та гідролізатів продуктів борошномельного виробництва сприяє утворенню грибного аромату у міцелії, одержаного під час глибинного культивування. Таким чином, в залежності від цільового призначення біомаси грибу, можливе використання глютену із концентрацією 30% або соєвого молока у якості джерел азоту, при одночасному застосуванні гідролізатів побічних продуктів борошномельного виробництва із концентрацією цукрів 0,15%. Якщо не важливі смакові характеристики, наприклад в тваринництві суху біомасу міцелію можна отримувати із застосуванням 30% глютену та ферментних гідролізатів. Але, якщо якісні характеристики відіграють роль, то доцільно використовувати поживні середовища із соєвим молоком. Вихід біомаси з такою комбінацією живильних компонентів менший, але є якісна перевага – грибний смак та аромат.

### 4.3 Вплив якості досліджуваних поживних середовищ на вихід біомаси грибу *Pleurotostreatus* НК-35

Для порівняння виходу біомаси гриба *Pleurotostreatus* при вирощуванні його на середовищі з кукурудзяного гідролізату, з використанням глютену та з використанням соєвого молока була побудована порівняльна діаграма, що зображена на рисунку 4.2.

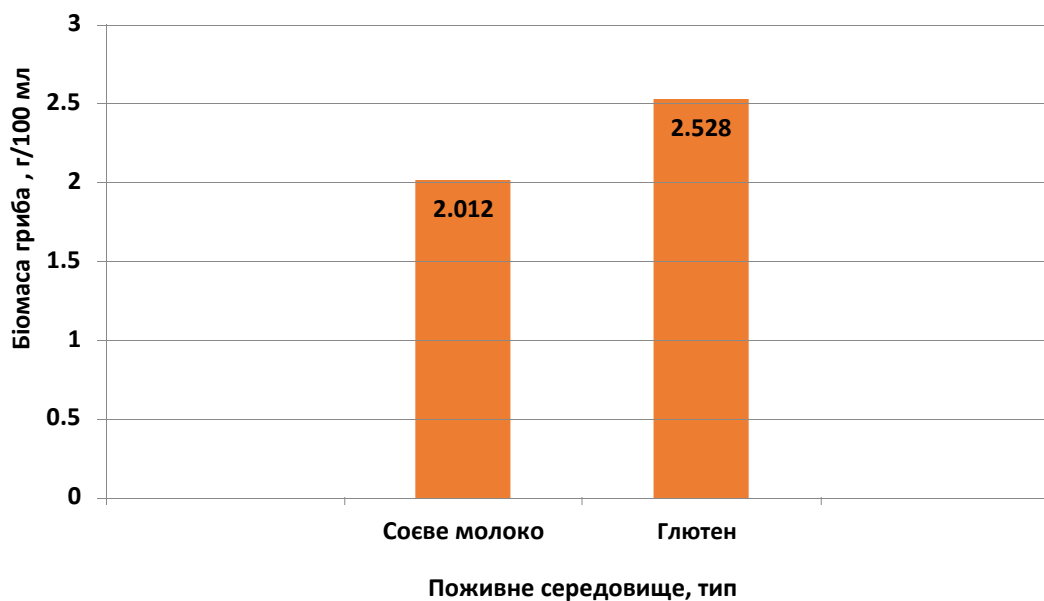


Рисунок 4.2 – Порівняльна діаграма виходу біомаси гриба *Pleurotostreatus* на кукурудзяному гідролізаті при використанні різних джерел азоту

З діаграми слідує, що при вирощуванні міцелію гриба *Pleurotostreatus* на кукурудзяному гідролізаті, який містить в якості джерела азоту глютен, вихід грибної біомаси є більшим в 1,4 рази, ніж на кукурудзяному гідролізаті, що містить в якості джерела азоту соєве молоко.

Щоб порівняти вихід біомаси гриба *Pleurotostreatus* при вирощуванні його на гідролізаті з гречаного борошна з використанням різних джерел азоту була побудована порівняльна діаграма, яка представлена на рисунку 4.3.

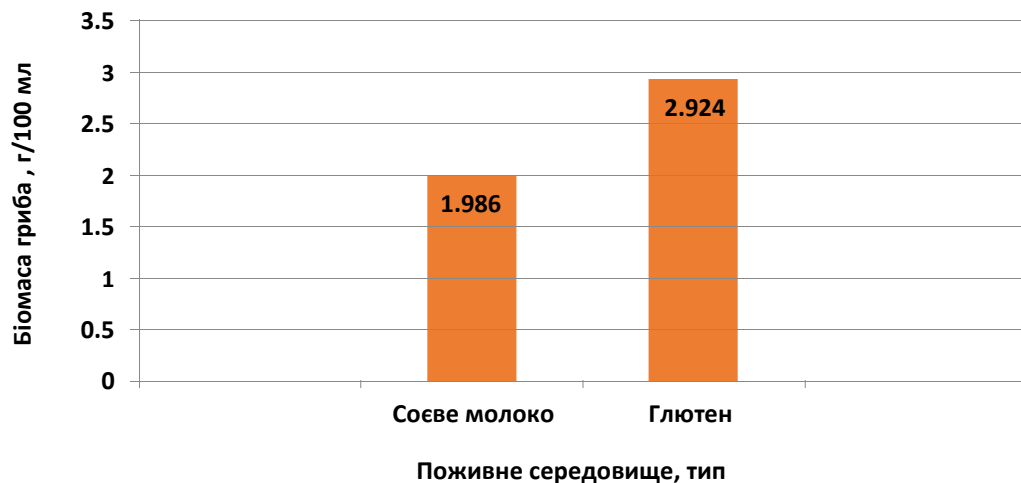


Рисунок 4.3 – Порівняльна діаграма виходу біомаси гриба *Pleurotus ostreatus* на гречаному гідролізаті при використанні різних джерел азоту

З даної діаграми слідує, що при вирощуванні міцелію гриба *Pleurotus ostreatus* на гречаному гідролізаті, який містить в якості джерела азоту глютен, вихід грибної біомаси є більшим в 1,7 разів, ніж на гречаному гідролізаті, що містить в якості азоту соєве молоко.

На рисунку 4.4 зображена діаграма порівняння виходу біомаси гриба при його вирощуванні на гідролізаті пшеничного борошна з використанням різних джерел азоту.

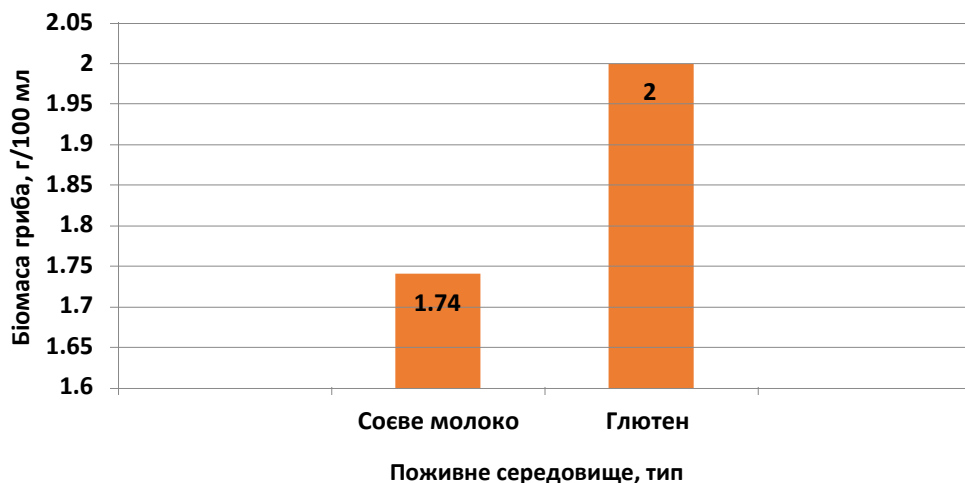


Рисунок 4.4 – Порівняльна діаграма виходу біомаси гриба *Pleurotusostratus* на пшеничному гідролізаті при використанні різних джерел азоту

Аналіз даної діаграми свідчить про те, що при вирощуванні міцелію гриба *Pleurotusostratus* на пшеничному гідролізаті, який містить в якості джерела азоту глютен, вихід грибної біомаси є більшим в 1,5 разів, ніж на пшеничному гідролізаті, що містить в якості азоту соєве молоко.

Для порівняння виходу біомаси гриба *Pleurotusostratus* при вирощуванні його на середовищі з гідролізату пшеничної мучки, з використанням глютену та на середовищі з гідролізату мучки, з використанням соєвого молока була побудована порівняльна діаграма, що зображена на рисунку 4.5.

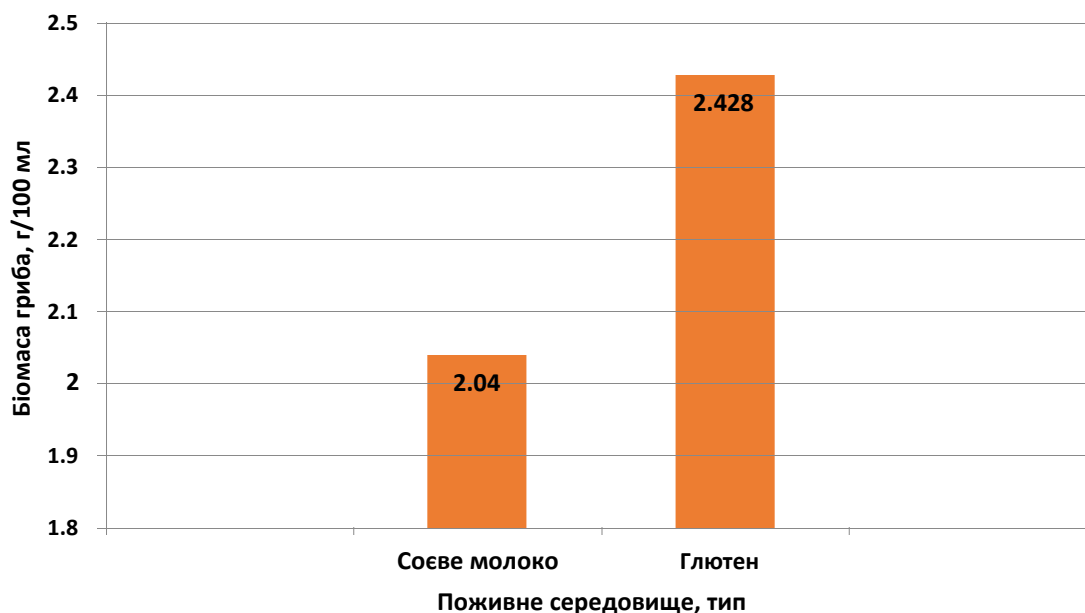
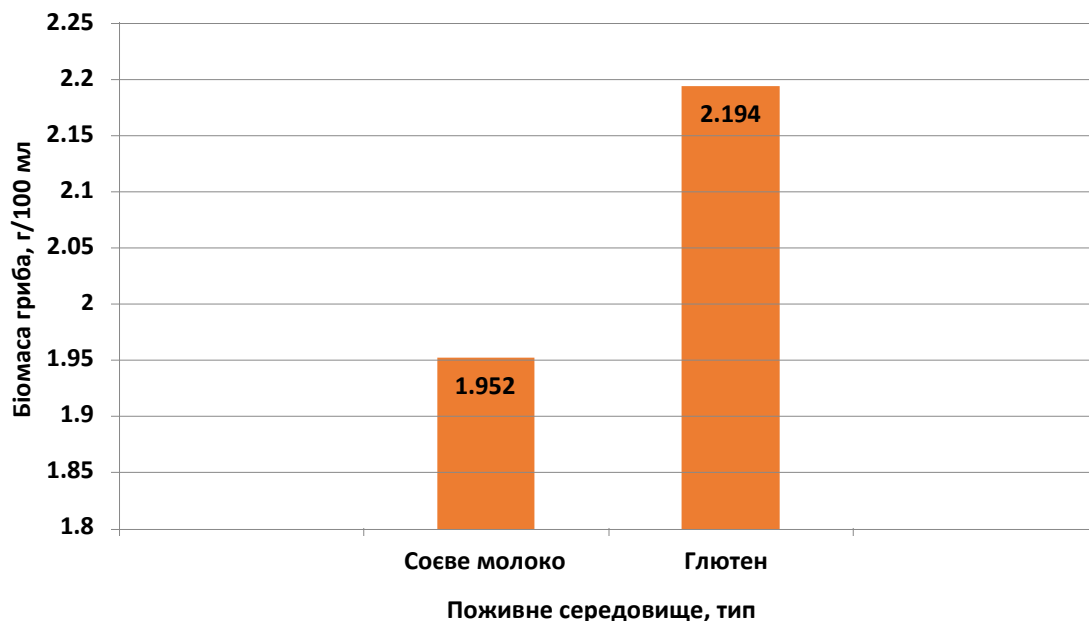


Рисунок 4.5 – Порівняльна діаграма виходу біомаси гриба *Pleurotusostratus* на гідролізаті з пшеничної мучки при використанні різних джерел азоту

З діаграми слідує, що при вирощуванні міцелію на середовищі з глютенном вихід біомаси є більшим в 1,6 разів, ніж при вирощуванні на середовищі з соєвим молоком.

Для порівняння виходу біомаси гриба *Pleurotusostratus* при вирощуванні його на середовищі з вівсяного гідролізату, з використанням глютену та на середовищі з вівсяного гідролізату, з використанням соєвого молока була



побудована порівняльна діаграма, що зображена на рисунку 4.6.

Рисунок 4.6 – Порівняльна діаграма виходу біомаси гриба *Pleurotusostratus* на вівсяному гідролізаті при використанні різних джерел азоту

Аналіз даної діаграми свідчить про те, що при вирощуванні міцелію гриба *Pleurotusostratus* на вівсяному гідролізаті, який містить в якості джерела азоту глютен, вихід грибної біомаси є більшим в 1,4 рази, ніж на вівсяному гідролізаті, що містить в якості азоту соєве молоко.

Щоб порівняти вихід біомаси гриба *Pleurotusostratus* при вирощуванні його на гідролізаті з житнього борошна з використанням різних джерел азоту була побудована порівняльна діаграма, яка представлена на рисунку 4.7.

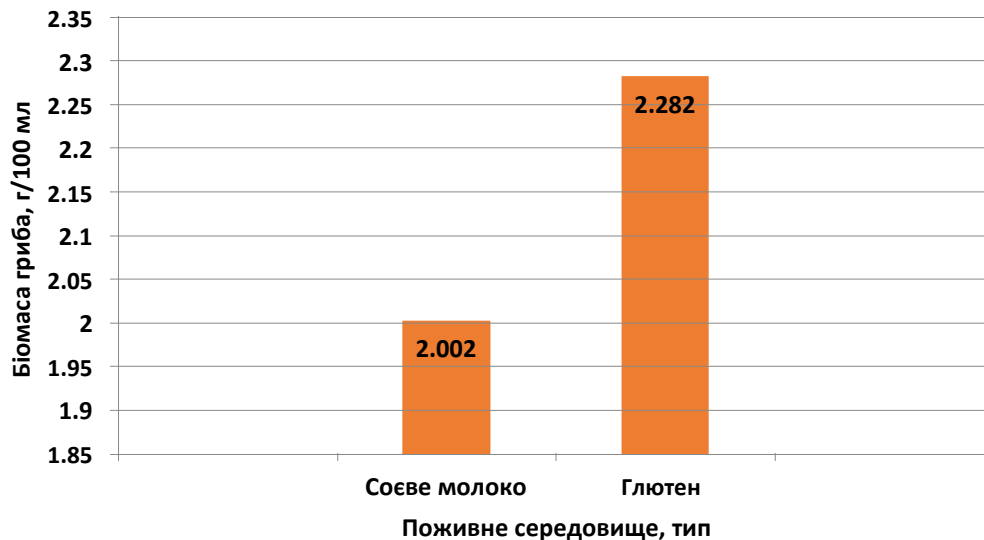


Рисунок 4.7 – Порівняльна діаграма виходу біомаси гриба *Pleurotustreatatus* на житньому гідролізаті при використанні різних джерел азоту

Проаналізувавши дану діаграму ми бачимо, що при вирощуванні міцелію гриба *Pleurotustreatatus* на житньому гідролізаті, який містить в якості джерела азоту глютен, вихід грибної біомаси є більшим в 1,3 рази, ніж на житньому гідролізаті, що містить в якості азоту соєве молоко.

Порівнюючи результати проведених досліджень виявлена певна закономірність: найбільший вихід біомаси спостерігається на середовищах, які вміщували в якості джерела азоту глютен, незалежно від природи джерела вуглецю. Можливо, що пояснюється хімічним складом глютену та соєвого молока, які використовуються в якості джерела азоту. З літературних даних відомо, що в 100 г соєвого молока міститься лише 2,7 г білків, тоді як в 100 г глютену – 4,0 – 6,5 г [58]. Отже, саме різний вміст білків в цих продуктах впливає на вихід біомаси гриба.

#### 4.4 Вплив якості досліджуваних поживних середовищ на вміст протеїну в біомасі грибу *Pleurotusostratus* НК-35

Для порівняння вмісту протеїну (%) в грибній біомасі, що культивувалася на середовищі з кукурудзяного гідролізату з соєвим молоком та глютенем була побудована порівняльна діаграма, зображена на рисунку 4.8.

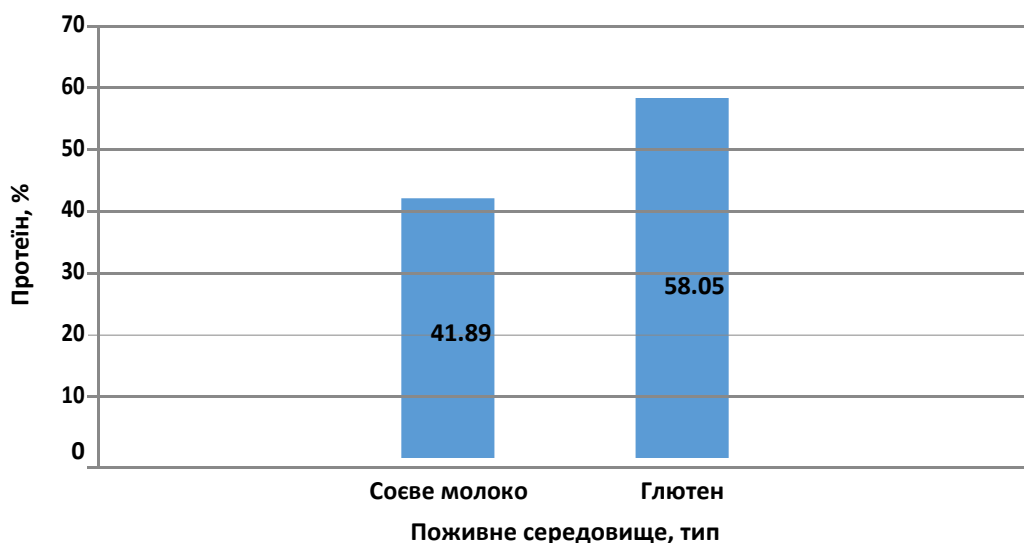


Рисунок 4.8 – Порівняльна діаграма вмісту протеїну в біомасі гриба *Pleurotusostratus* на кукурудзяному гідролізаті при використанні різних джерел азоту

Проаналізувавши дану діаграму спостерігаємо, що вміст протеїну на середовищі з глютенем є більшим, ніж на середовищі з соєвим молоком в 1,5 разів.

Щоб порівняти вміст протеїну в біомасі гриба *Pleurotusostratus* при вирощуванні його на гідролізаті з гречаного борошна з використанням різних джерел азоту була побудована порівняльна діаграма, яка представлена на рисунку 4.9.

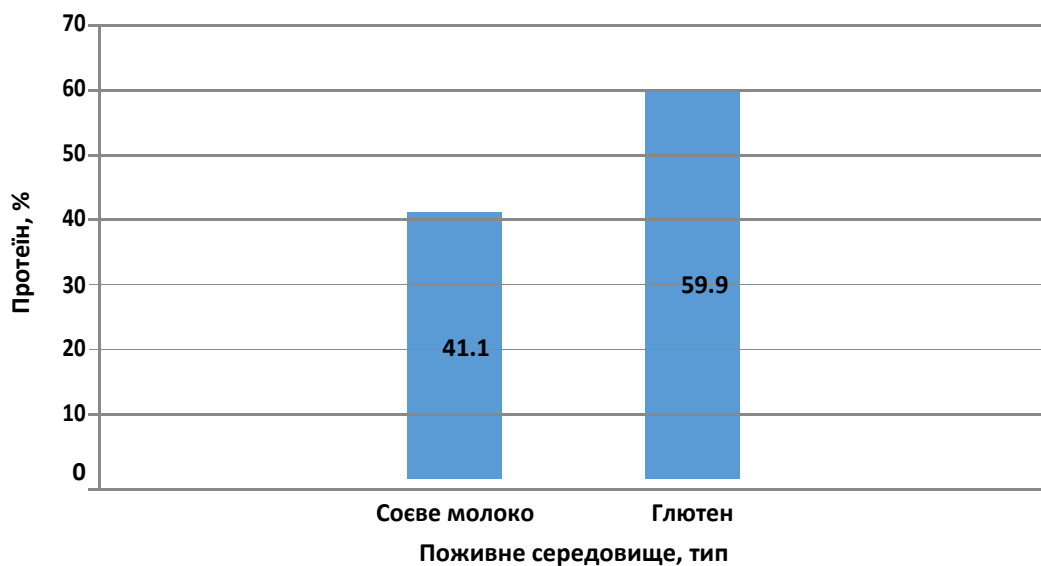


Рисунок 4.9 – Порівняльна діаграма вмісту протеїну в біомасі гриба *Pleurotusostratus* на гречаному гідролізаті при використанні різних джерел азоту

Проаналізувавши діаграму, що зображена на рисунку 4.9, спостерігаємо, що при вирощуванні міцелію гриба *Pleurotusostratus* на середовищі з гречаного гідролізату та глютену вміст протеїну є більшим в 1,7 разів, ніж на середовищі з використанням соєвого молока в якості джерела азоту.

На рисунку 4.10 зображена діаграма порівняння вмісту протеїну в біомасі при вирощуванні її на пшеничному гідролізаті з використанням різних джерел азоту.

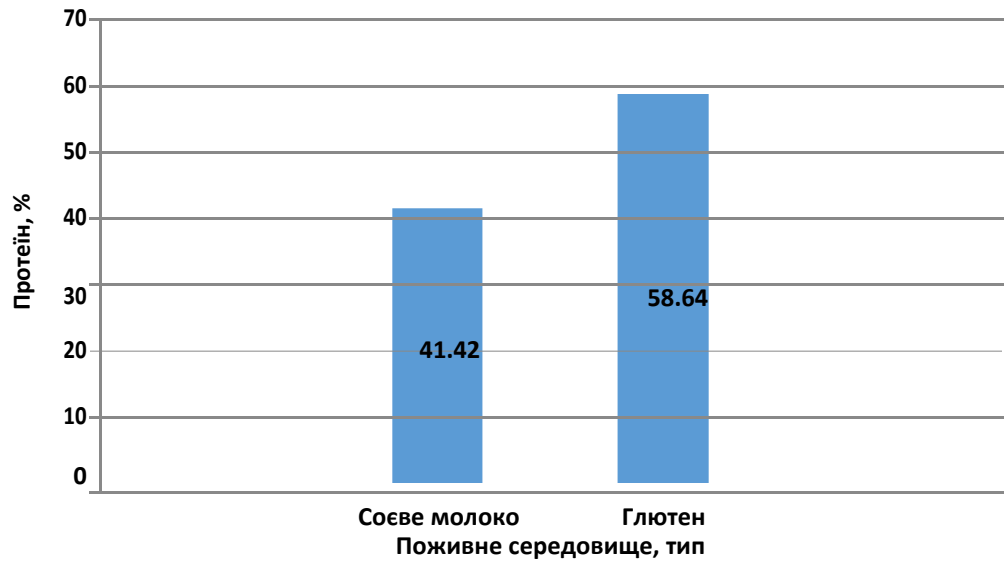


Рисунок 4.10 – Порівняльна діаграма вмісту протеїну в біомасі гриба на пшеничному гідролізаті при використанні різних джерел азоту

Проаналізувавши діаграму, що зображена на рисунку 4.10, спостерігаємо, що при вирощуванні міцелію гриба *Pleurotusostratus* на середовищі з пшеничного гідролізату та глютену вміст протеїну є більшим в 1,6 разів, ніж на середовищі з використанням соєвого молока в якості джерела азоту.

Щоб порівняти вміст протеїну в біомасі гриба *Pleurotusostratus* при вирощуванні його на гідролізаті з пшеничної мучки з використанням різних джерел азоту була побудована порівняльна діаграма, яка представлена на рисунку 4.11.

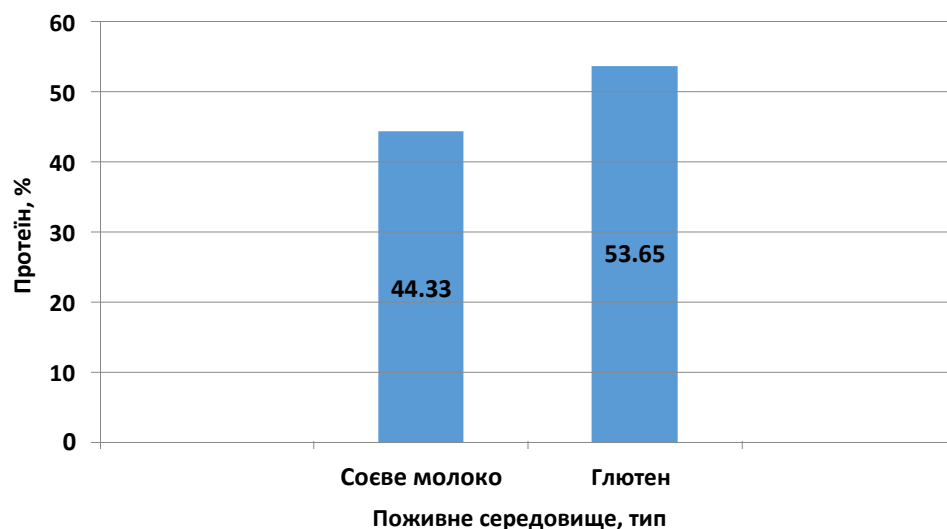


Рисунок 4.11 – Порівняльна діаграма вмісту протеїну в біомасі гриба *Pleurotus ostreatus* на гідролізаті з пшеничного мучки при використанні різних джерел азоту

Аналіз діаграми свідчить про те, що найбільший вміст протеїну спостерігався на середовищі з використанням в якості джерела азоту глютену. Різниця становить 9,32 % (1,4 рази).

Щоб порівняти вміст протеїну в біомасі гриба *Pleurotus ostreatus* при вирощуванні його на гідролізаті з вівсяного борошна з використанням різних джерел азоту була побудована порівняльна діаграма, яка представлена на рисунку 4.12.

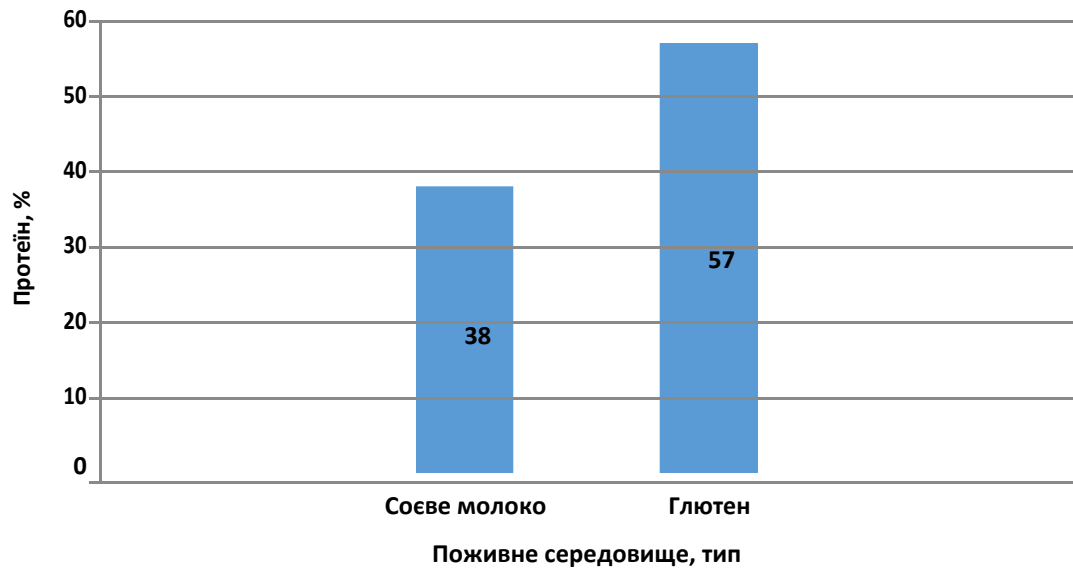


Рисунок 4.12 – Порівняльна діаграма вмісту протеїну в біомасі гриба *Pleurotus ostreatus* на гідролізаті з вівсяного борошна при використанні різних джерел азоту

Проаналізувавши дану діаграму, бачимо, що найбільший вміст протеїну спостерігався на середовищі з використанням в якості джерела азоту глютену. Різниця становить 17,18 % (1,7 разів).

Щоб порівняти вміст протеїну в біомасі гриба *Pleurotus ostreatus* при вирощуванні його на гідролізаті з житнього борошна з використанням різних джерел азоту була побудована порівняльна діаграма, яка представлена на рисунку 4.13.

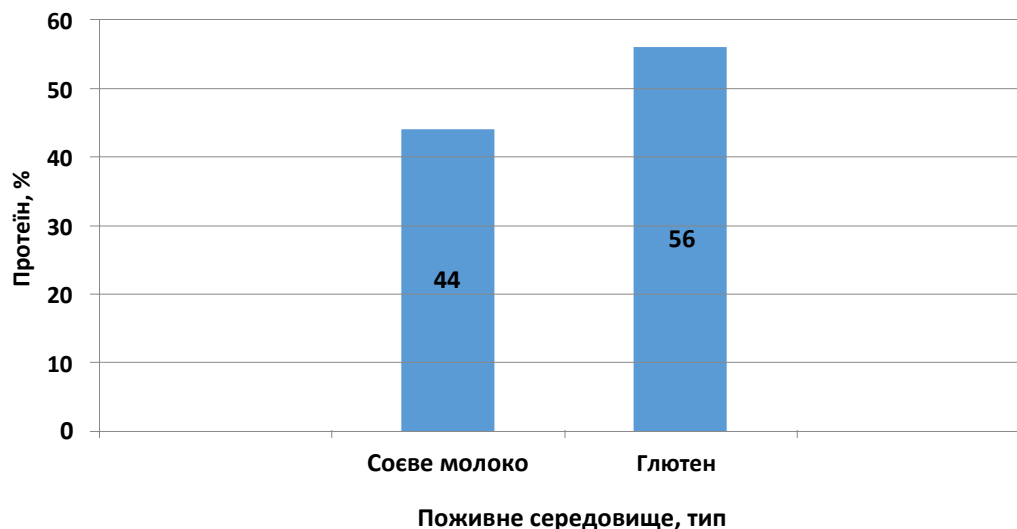


Рисунок 4.13 – Порівняльна діаграма вмісту протеїну в біомасі гриба *Pleurotus ostreatus* на гідролізаті з житнього борошна при використанні різних джерел азоту

Аналіз даної діаграми свідчить про те, що вміст протеїну на середовищі з використанням в якості джерела азоту глютену є більшим в 1,3 рази, ніж при використанні соєвого молока.

Згідно з отриманим даними дослідження була розроблена наступна блок-схема вирощування міцеліальних організмів на ферментованій крохмалевмісній сировині (рис. 4.14). Дана блок-схема рекомендується для запровадження у промислового виробництві біомаси гриба роду *Pleurotus* та отримання білковмісного порошку.

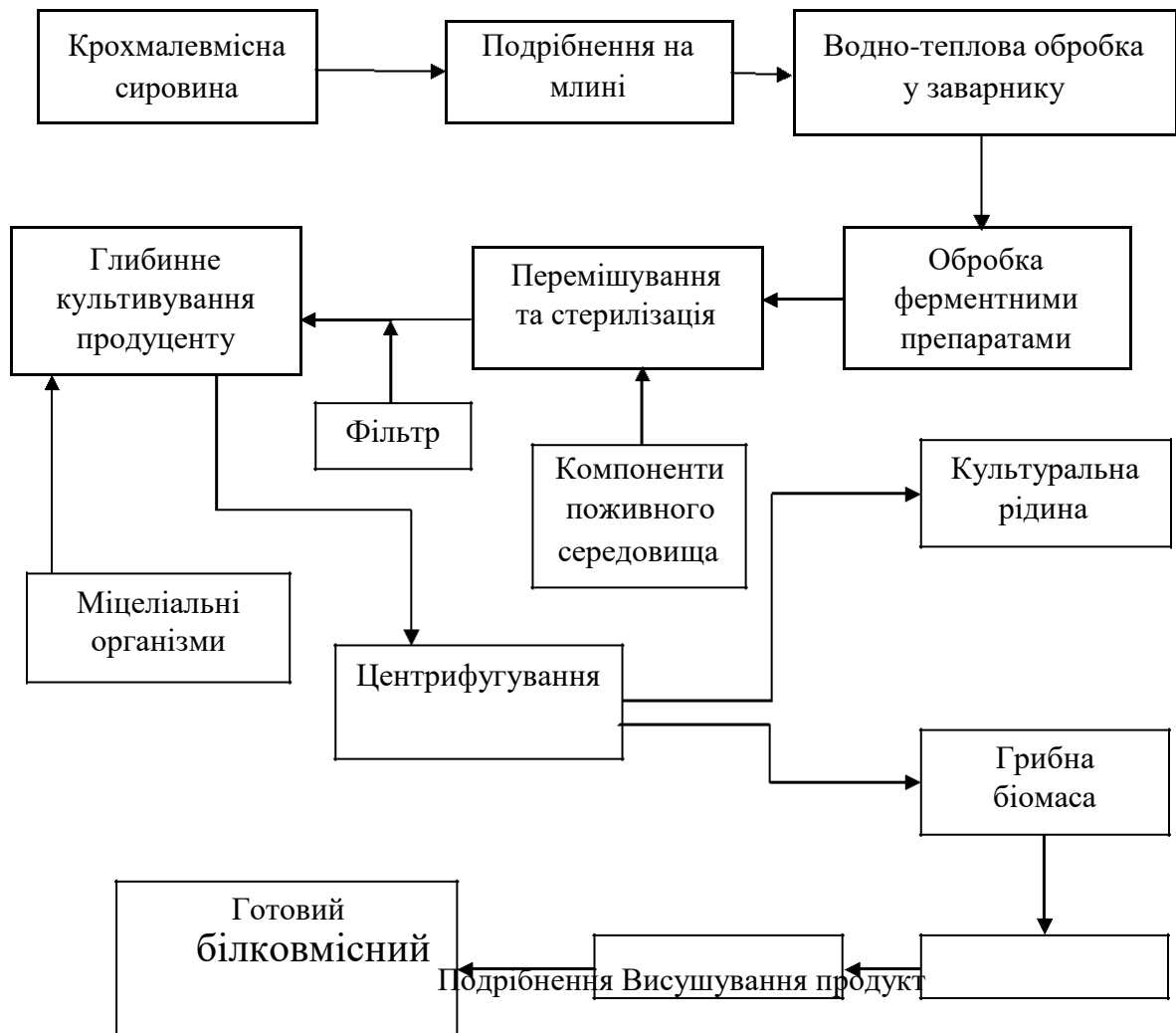


Рисунок 4.14 – Блок-схема вирощування міцеліальних організмів на ферментованій крохмалевмісній сировині

Спочатку сировина підлягає подрібненню до стану борошна у млині 1 (рис. 4.15). Далі борошно подається у заварник 2, де воно проходить водно-теплову обробку при температурі 90-95 °С. Потім заварена маса подається в апарат 3, де відбувається його обробка ферментними препаратами «Альфалат» і «Глюколат». Після цього вся маса направляється у реактор 4, куди подаються інші компоненти поживного середовища (глютен або соєве молоко, вода та ін.), що підлягають перемішуванню та стерилізації. Далі отримане поживне середовище через фільтр 5, щоб уникнути потрапляння комків, направляється у

ферментатор 6, де відбувається глибинне культивування продуценту. По закінченню процесу вирощування грибну біомасу відділяють від культуральної рідини за допомогою центрифуги 7. Отриману біомасу піддають висушуванню в сушарці 8. А потім подрібнюють за допомогою дробарки 9. В результаті отримуємо готовий білковмісний продукт у вигляді порошку.

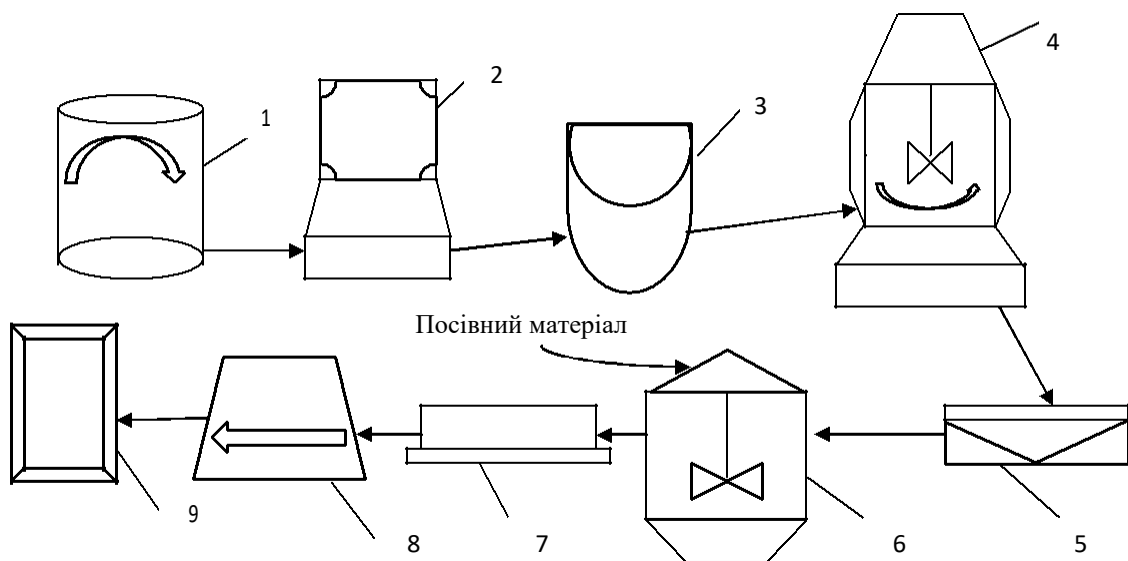


Рисунок 4.15 – Блок-схема отримання білковмісного продукту при культивуванні грибів роду *Pleurotus*

Результати досліджень показали, що даний спосіб вирощування грибів роду *Pleurotus* на середовищах із рослинної крохмалевмісної сировини може бути застосований на заводах, які виробляють грибну біомасу, вирощуючи її на рослинних площах із крохмалевмісною сировиною. В галузі біотехнологій нові розробки можуть призвести до суттєвих досягнень для національного господарства країни.

## ВИСНОВКИ

Під час проведення досліджень було встановлено, що:

1. *Pleurotostreatus* НК-35 має найвищі показники швидкості росту, ростовий коефіцієнт та був обраний для вивчення впливу різних джерел азоту на його ростові показники.
2. Соеве молоко та глютен, як потенціальні джерела азоту в живильному середовищі, можуть бути застосовані для отримання біомаси гриба з підвищеним вмістом протеїну. Кількість протеїну на досліджуваних середовищах як при присутності глютену, так і соєвого молока перевищує контрольні значення на 1,2 рази. При однаковій концентрації азоту доцільніше застосовувати глютен незалежно від виду борошна.
3. Встановлено, що гідролізатикрохмалевмісної сировини, які запропоновані в даному дослідженні, можуть бути використані для приготування поживних середовищ в якості джерела вуглецю та енергії при вирощуванні біомаси гриба *Pleurotostreatus* НК-35. Найбільша кількість біомаси гриба визначена на гідролізаті гречаного борошна – 2,924 г/100 млв присутності глютену та на гідролізаті пшеничної мучки – 2,040 г/100 млв присутності соєвого молока.
4. Виявлено, що оптимальним для накопичення грибної біомаси і протеїну *Pleurotostreatus* НК-35 було поєднання глютену з гідролізатом гречаного борошна, тому це середовище можна рекомендувати для застосування в промислових умовах.
5. Грибна біомаса, отримана у дослідах при використанні соєвого молока, мала виражений грибний смак та аромат, що не спостерігалось при застосуванні різних комбінацій джерел вуглецю та глютену. Це може свідчити про те, що саме комбінація соєвого молока та гідролізатів продуктів борошномельного виробництва сприяє утворенню грибного аромату у міцелії.

## СПИСОК ВИКОРИСТАНОЇ ЛІТЕРАТУРИ

1. Кащевська О. В. Вирощування їстівних грибів: рек. покажч. літ. / уклад. О. В. Кащевська, А. А. Ястремська / ред. О. Г. Пустова. – Миколаїв: МНАУ, 2016. – 32 с.
2. Півень І. О, Єрмолаєва В. М. Інтенсивне вирощування гливи на відходах сільськогосподарського виробництва, Хімія. Агрономія. – 2009. – № 11. – С. 44–47.
3. Карпов Ф. Ф. Вирощуємо гриби на садовій ділянці / Ф. Ф. Карпов - К.: Фітон, 2008. - 64 с.
4. Відяпін В. І. Грибний харчовий продукт / В. І. Відяпін, Г. Г. Жарікова, О. А. Косарева – № 2007128250/13; опубл. 27.03.09, Бюл. № 9. – 4 с.
5. Захаренко А. Роль мікроклімату у житті грибів / А. Захаренко // Овочівництво. – 2007. – № 12. – С. 66 – 71.
6. Bhattacharjya D. K., Paul R. K., Miah M. N. 2015. Comparative Study on Nutritional Composition of Oyster Mushroom (*Pleurotus ostreatus* Fr.) Cultivated on Different Sawdust Substrates / D. K. Bhattacharjya // Biores Comm. 1(2), 93-98.
7. Дорошкевич Н. В. Господарсько-біологічна оцінка нових штамів гриба *Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr.) Kummer: канд. с.-г. наук.: «Овочівництво» / Н. В. Дорошкевич – К., 2010. – 20.
8. Кузнецова О. В., Власенко К. М. Вплив біорегуляторів росту на розвиток базидіоміцетів. Актуальні проблеми ботаніки та екології: матеріали Міжнар. конф. молодих учених, 2-5 вересня 2018 р / О. В. Кузнецова, К. М. Власенко, К.: 2018. С. 78.
9. Бандура І. І., Кулик А. С., Бісько Н. А., Хареба О. В., Цизь О. М., (2020). Analysis of the biological efficiency and quality factors of mushrooms of the genus *Pleurotus* (Fr.) P. Kumm as a model of effective cultivation of lignicolous fungi with high functional value. *Plant Varieties Studying and Protection*, 16(4).

10. Жибак Т. Вирощування гливи звичайною інтенсивним способом / Т. Жибак // Овочівництво. – 2006. – № 7. – С. 74 – 77.
11. Сімахіна Г. Перспективи використання їстівних грибів як повноцінні білки / Г. Сімахіна // Продукти та інгредієнти. - 2008. - № 6. - С. 106 - 109.
12. Лебедева Г. В. Виділення та характеристика ферменту сичужної дії з плодових тіл гливи звичайної / Г. В. Лебедева, М. Т. Проскураков, М. А. Кожухова // Вісті ВНЗ. Харчова технологія: КубДТУ, 2008. № 1. - С. 114 - 115.
13. Ноа, Н. Т., Wang, С.-L. & Wang, С.-Н. (2015). The effects of different substrates on the growth, yield, and nutritional composition of two oyster mushrooms (*Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus cystidiosus*). *Mycobiology*, 43(4), 423-434.
14. Бандура І. І. Оцінка впливу технік культивування на зміну морфологічних ознак зростків плодових тіл *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm / І. І. Бандура, А. С. Кулик, С. С. Байбєрова // Науковий Вісник НУБіП України. Серія: Агрономія – 2018. – № 286 (2018) – С. 283-294.
15. Власенко К. М. Вплив хімічного складу субстрату на показники росту, врожайності та синтез летких органічних сполук при твердофазному культивуванні *Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr.) Kumm. Наукові доповіді НУБіП України. 2018. № 2 (72).
16. Гарібова Л. В. Вирощування грибів / Л. В. Гарібова - К.: Віче, 2005. - 96 с.
17. Ogundele, G. F., Abdulazeez, R. O. & Bamidele, O. P. (2014). Effect of pure and mixed substrate on oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) cultivation. *Journal of Experimental Biology and Agricultural Sciences*, 215-219.
18. Бухало, А. С. Каталог колекції культур шапинкових грибів / А. С. Бухало, Н. Ю. Митропольська, О. Б. Михайлова. - К.: Славутич-Дельфін, 2006. - 36 с.

19. McGaw J, Andrianopoulos A and Liuti A (2022) Tangled Tales of Mycelium and Architecture: Learning From Failure. *Built Environ.* 8:805292.
20. Уланова Р. В. Вивчення культивування штаму *Pleurotus ostreatus* у глибинній культурі на середовищі зернового екстракту / Р. В. Уланова, В. Г. Гольдштейн // *Досягнення науки та техніки АПК.* 2018. Т. 32. № 8. С. 82-87.
21. Алексеєнко О. М., Полішко Т. М., Вінніков О. І. Харчова, лікувальна та екологічна цінність грибів *Pleurotus ostreatus* // *Вісник Дніпропетровського університету. Біологія.* Дніпропетровськ: Дніпропетровський національний університет ім. Олеся Гончара, 2010. №18-1. С. 3-9.
22. Velazquez-Ceden M. A. Wastereducing cultivation of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus pulmonarius* on coffee pulp: changes in the production of some lignocellulolytic enzymes / M. A. Velazquez-Ceden, G. Mata, // *World Journal of Microbiology & Biotechnology.* – 2002. – 18. – P. 201–207.
23. Соломко Е. Харчова цінність та оздоровлюючі властивості культивованих грибів / Е. Соломко // *Овочівництво.* - 2009. - № 3. - С. 70 - 73.
24. В. І. Лихацький, О. І. Улянич, М.В. 2012. *Овочівництво. Навчальний посібник.* Гордій – Вінниця, 441с.
25. Тарнопільська В. В. Біомаса глибинного міцелію базидіальних грибів як джерело білка та комплексу біологічно активних речовин / В. В. Тарнопільська, О. В. Кисельова, Є. В. Алаудінова // *Біотехнології в хіміко-лісовому комплексі : матеріали Міжнар. наук. конф., 2014.* - С.287-290.
26. Вдовенко С. А. Формування врожаю гливи звичайної залежно від інтенсивності освітлення. / С. А. Вдовенко // *Збірник наукових праць Вінницького національного аграрного університету.* – Вінниця, 2012. – Випуск 1(57) . – С.11 – 18.

27. Вдовенко С. А. Особливості культивування гливи звичайної на солом'яних субстратах / С. А. Вдовенко // Матеріали II міжнародної науково-технічної конференції «Земля України - потенціал енергетичної та екологічної безпеки держави». Збірник наукових праць ВНАУ. – Вінниця, 2011. - Випуск 8 (48). – С. 75-79.
28. Бухало А. С. Каталог колекції культур шапинкових грибів / А. С. Бухало, Н. Ю. Митропольська, та інші – К. : Славутич-Дельфін, 2006. – 36 с.
29. Костіков І. Ю. Ботаніка. Водорості та гриби / І. Ю. Костіков, В. В. Джаган, Є. М. Демченко та ін. - К.: Арістей, 2006. - С. 225-442.
30. М'ячикова Н. І. Технологія напівфабрикатів з культивованих грибів глива звичайна та кулінарної продукції з їх використанням: автореф. дис. д-ра с.-г. наук : 06.01.04 / ХПІ. - Харків, 2006. – 29 с..
31. Тарасов С. С. Вплив кормової добавки на основі зернового міцелію гливи звичайної (*Pleurotus ostreatus*) на окислювальні процеси та активність антиоксидантних ферментів у плазмі крові кролика європейського (*Oryctolagus cuniculus*) / С. С. Тарасов // Звістки вищих навчальних закладів. Природні науки. - 2017. - № 1 (17). – С. 26–32.
32. Бабаянц О.В. Грибівництво в Україні: наука та практика сьогодення. Посібник українського хлібороба. 2019. С. 279-280.
33. Кравців Р. Й. Особливості обміну білків крові сухостійних корів при згодовуванні їм за різного способу утримання грибниці гливи (*Pleurotus ostreatus*) / Р. Й. Кравців, О. Й. Захарів, 2008. - С. 113-117.
34. Мельничук М.Д. Загальна (промислова) біотехнологія: навчальний посібник/ М.Д. Мельничук, О.Л.Кляченко, В.В.Бородай, Ю.В.Коломієць. – Київ: ФОП Корзун Д.Ю., 2014. - 252 с.
35. Пучкова Т. А., Костеневич А. А., Гончарова І. А., Козинець А. І. Використання відпрацьованого солом'яного субстрату після культивування

гриба глива звичайна в годуванні молодняка великої рогатої худоби : Вісті Національної академії наук // Серія біологічних наук. – 2016. – № 4. – С. 42–47.

36. Надаринская М. А. и др. Субстрат гливи звичайної в раціонах молодняка крупного рогатого скота / Науковий вісник НУ України. Серія: Технологія виробництва і переробки продукції тваринництва. – 2015. - № 205. - С. 172-182.

37. Абаканова Г. М., Балджи Ю. А. «Мікробіологічні показники субстрату грибних блоків після екструдуювання», «Сейфуллінські читання – 18(2): «Наука ХХІ століття – Епоха трансформації». Зб. матеріал. міжнарод. наук. - Практична. конф. – Астана, 2022. – с.190-192.

38. Мітченко О. І., Лутай М. І. Дисліпідемії: діагностика, профілактика та лікування. – Київ: Літера, 2011. – 48 с.

39. Вдовенко С. Біометричні показники плодкових тіл гливи звичайної залежно від виду субстрату / С. Вдовенко // Вісник Львівського національного аграрного університету: Агрономія. – Львів, 2012. - №16. – С. 315 – 321

40. Манський О. А. Вивчення технологічних властивостей екстракту сухого гриба *Pleurotus ostreatus* / О. А. Манський, І. В Сайко, А. А. Січкарь // Сучасні досягнення фармацевтичної технології і біотехнології : зб. наук. пр. - Харків, 2019. - Вип. 6. - С. 305-306.

41. Deacon J. W. Fungal biology. – 4th ed. – Edinburgh : Blackwell Publishing Ltd., 2006. – 380 p.

42. Kirk P. M. Ainsworth & Bisby's Dictionary of the Fungi / P. M. Kirk, P. F. Cannon, D. W. Minter et al. – 10th ed. – Wallingford (UK): CAB International, 2008. – 771 p.

43. Іванова Т. С., Бісько Н. А., Барштейн В. Ю., Круподьорова Т. А. Біологічно-активні речовини грибів відділу Basidiomycota // Проблеми харчування – 2010, № 1-2. – С. 42-47.

45. Ivanova T. S., Krupodorova T. A., Barshteyn V. Y., Artamonova A. B., Shlyakhovenko V. A. Anticancer substances of mushroom origin // *Experimental Oncology* – 2014, vol. 36, iss. 36. – P. 58-66.
46. He X., Fang J., Guo Q., Wang M., Li Y., Meng Y., Huang L. Advances in antiviral polysaccharides derived from edible and medicinal plants and mushrooms // *Carbohydrate Polymers* – 2020, vol. 229, № 115548.
47. Болотських О. С., Вдовенко С. А. Виробництво гливи звичайної та її економічна ефективність // *Збірник наукових праць Вінницького національного аграрного університету. Серія: Сільськогосподарські науки.* – Вінниця, 2012. – Випуск 4(63) . – С.104 – 114.
48. Minter D. W. *Mycology in Ukraine* / D. W. Minter, I. O. Dudka, T. V. Andrianova et al. – CD: PDMS Publishing, 2003. – 826 p.
49. Бейбулат М. Р., Тихомирова Н. А., Урденко Н. А., Буйвал Р. А. Підвищення приживання та розвиток саджанців винограду при використанні біопрепарату на основі ендомікоризних грибів. *Біологія рослин та садівництво: теорія, інновації.* 2019; (152): 93-99.
50. Брусніцина О. М. Каталазна активність грибів роду *Pleurotus* / О. М. Брусніцина // *Актуальні проблеми ботаніки та екології. Матеріали міжнародної конференції молодих учених-ботаніків (17-20 вересня 2007 р., м. Київ).* – К.: Фітосоціоцентр, 2007. – С. 242.
51. Івшина Т. Н. Виділення хітин-глюканового комплексу з плодових тіл капелюшних грибів / Т. Н. Івшина, С. Д. Артамонова, В. П. Івшин // *Прикладна біохімія та мікробіологія.* - 2009. -Т. 45.-№3 - С. 348 -353.
51. Дудка І. О. Розробка наукових основ промислового грибовництва та їх практична реалізація в аграрному комплексі України / І. О. Дудка та інші // *Достижения, проблемы и перспективы культивирования грибов. Современные технологии: международная научно практическая конференция, 29 сентября – 2 октября 2005 г.* – Дон НУ. – С. 3-16.

52. Вдовенко С. А. Формування врожаю гливи звичайної за інтенсивного вирощування – Вісник Полтавської державної аграрної академії – 2013 - № 4. С. 26–29.
53. Войтенко Т. Л. Режими термічної обробки субстрату при вирощуванні гливи звичайної у штучних умовах. Овочівництво і баштанництво. 2010. Вип. 56. С. 91–95.
54. Вдовенко С. А. Особливості формування врожаю гливи звичайної за інтенсивного вирощування / С. А. Вдовенко // Агробіологія. - 2011. - Вип. 6. - С. 87-90.
55. Сулейманова Ж. Б., Блієва Р. К. та інші "α-амілаза та її застосування в різних галузях промисловості " Мікробіологія та вірусологія, №. 3 (42), 2023, С. 52-67.
56. Борзова Н. В. Глюкоамілаза мікроорганізмів. Біосинтез, властивості, механізм дії та практичне застосування / Н. В. Борзова, О. В. Гудзенко, Л. Д. Варбанець // Біотехнологія. — 2009. — Т. 2, № 1. — С. 9-23.
57. Бужилов М. Г. Оцінка фракцій висівок пшениці як об'єктів біотехнологічної переробки / М. Г. Бужилов, Л. В. Капрельянц та інші // Наукові праці Одеської національної академії харчових технологій - 2018. - Т. 82, Вип. 2. - С. 55-61.
58. Методи експериментальної мікології: Довідник / - К.: Книга на вимогу, 2014. - 552 с.
59. Булах І.Є., Лях Ю.Є., Марценюк В.П., Хаїмзон І.І. Медична інформатика. Підручник. — Тернопіль: ТМДУ, 2008. — 308с.
60. Кузнєцова О. В. Вплив стимуляторів зростання на розвиток вегетативного міцелію *Pleurotus ostreatus* (Jacq: Fr.) Kumm // Biotechnol. acta. 2011. №3.