

УКРАЇНЬКА АКАДЕМІЯ АГРАРНИХ НАУК  
ІНСТИТУТ ВИНОГРАДУ І ВИНА "МАГАРАЧ"

ТАНАЩУК Тетяна Миколаївна

УДК: 663.252.6:582.284 (043.8)

РОЗРОБКА БІОТЕХНОЛОГІЇ КУЛЬТИВУВАННЯ ІСТИННОГО ГРИБА  
*Leñtinus edodes* (Berk.) Sing НА ВИНОГРАДНІЙ ВІЧАВЦІ

03.00.20 - біотехнологія

Автореферат  
дисертації на здобуття наукового ступеня  
кандидата технічних наук

Київ - 1997 р.

502.4



00751776 (X)

Дисертація в рукописом.  
Роботу виконано в Інституті:

Науковий керівник: кандидат технічних наук  
Клецак Іна Рішардівна,  
докторант ІВІВ "Магарач"

Офіційні опоненти: доктор технічних наук, професор  
Бур'ян Надія Іванівна,  
головний науковий співробітник  
ІВІВ "Магарач"

кандидат біологічних наук  
Трутнева Ірина Анатоліївна,  
старший науковий співробітник  
Інституту генної інженерії і  
молекулярної біології

Провідна установа: Кримський медичний інститут,  
кафедра мікробіології

Захист відбудеться 25 листопада 1997 р. о 13 годині на засі-  
данні спеціалізованої ради Д.82.02.02 в Інституті винограду і ви-  
на "Магарач" УАН за адресою: 834200, Автономна республіка Крим,  
м.Ялта, вул.Кірова, 21.

З дисертацією можна ознайомитися у бібліотеці Інституту ви-  
нограду і вина "Магарач".

Автореферат дисертації розіслано 25 жовтня 1997 р.

Вчений секретар спеціалізованої ради,  
кандидат технічних наук, старший  
науковий співробітник  
*С.Пупалі* Л.І.Журавльова

## ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ

**Актуальність теми.** Одним з актуальних завдань виноробства є створення технологій безвідходної переробки винограду. Аналіз існуючих способів переробки вторинних ресурсів у цій галузі показав, що за останні роки здійснюється перехід від традиційних підходів утилізації (виноградна вичавка - етанол - ВКВ - кормове борошно) до мікробіологічної трансформації лігноцелюлозного матеріалу в напрямку збагачення його білками кормового чи харчового призначення.

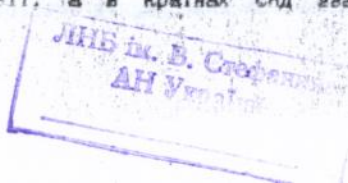
Мікробіологічна трансформація виноградної вичавки ґрунтується на використанні грибів - продуцентів їстівних плодових тіл і багато в чому вирішує проблему забезпечення екологічної чистоти переробки. Другим важливим аспектом є розширення спектру продукції, що виробляється з винограду, і поповнення дефіциту білка в раціоні харчування людини і годівлі тварин.

Проведеними в 1985-1996 рр. в Інституті "Магарач" і в Інституті ботаніки НАН України дослідженнями зі створення біотехнологій виробництва збагачених білком продуктів із лігноцелюлозних відходів виноградарства і виноробства, доведено перспективність виробництва на твердих відходах переробки винограду (мова, вичавка, гребені) плодових тіл їстівного гриба Гливи звичайної (І.А.Дудка та ін., 1978; Н.А.Вісько, І.А.Дудка, 1987; В.М.Єжов та ін., 1993).

У той же час, в світовій практиці широко відомі інші види їстівних грибів, що введені в промислову культуру. Серед них особливе місце займає гриб *Lentinus edodes* (Berk.) Sing (сітатке), який є хронологічно першим об'єктом в історії штучного культивування їстівних грибів людиною. Об'єм виробництва цього гриба в світі в 1995 році досяг 862 тис. тонн, відстаючи лише від видів роду *Agaricus* (Chang, 1996).

Гриби виду *L. edodes* відзначаються високою харчовою цінністю, а також лікувально-профілактичними властивостями, зокрема, онкостатичною, антисклеротичною і радіопротекторною діями, а також є цінною сировиною для одержання фармпрепаратів (К.Морі, І.Тоусмазу, Н.Найда, 1997; X. Yang, Q. Yang, J. Zhang, 1995; С. Chihara, 1995).

Тим часом, промислове освоєння грибів *L. edodes* сконцентровано в країнах Південно-Східної Азії, а в країнах СНД взагалі відсутнє.



У зв'язку з цим, дослідження можливості утилізації виноградної вичавки грибами виду *L.edodes*, з метою одержання цілого харчового та лікувально-профілактичного продукту є актуальним.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Роботу виконано згідно з програмою науково-дослідницьких робіт ІВІВ "Магарач" за період 1990- 1997 рр., NN держреєстрації А01003486Р, 0196И010383; а також за програмою ДКНТ N 3.13/27.

Своє продовження ця проблема отримала в науково-технічній програмі "Розробка біотехнології одержання їстівного гриба сітатке - нового лікувально-профілактичного харчового продукту", яка виконується в рамках Державного фонду фундаментальних досліджень.

**Мета і завдання дослідження.** Метою цієї роботи є розробка і промислове освоєння біотехнології одержання грибів *L.edodes* шляхом культивування на виноградної вичавці.

Для досягнення поставленої мети було необхідно:

- провести скринінг штамів *L.edodes*, які найбільш ефективні для біотрансформації виноградної вичавки;
- виявити закономірності біотрансформації компонентів водного екстракту з виноградної вичавки у процесі глибинного культивування *L.edodes*;
- вивчити закономірності біодеградації виноградної вичавки штамми *L.edodes* під час твердосубстратного культивування;
- розробити технологію одержання міцелію і плодових тіл *L.edodes* на виноградної вичавці.

**Наукова новизна.** Встановлено принципову можливість росту штамів *L.edodes* на виноградної вичавці. Внаслідок скринінгу штамів *L.edodes* за здатністю до активної біотрансформації компонентів виноградної вичавки, для практичного використання відібрано колекційний штам N 259. Після культивування цього штамів на виноградної вичавці і отримання плодових тіл, з них виділено штам соматичних структур *L.edodes*, який має підвищені ростові характеристики і відповідний вихід плодових тіл.

З метою встановлення оптимального терміну пересівання *L.edodes* на твердий субстрат, вивчено закономірності споживання джерел харчування і синтезу ферментів глибинною культурою; виявлено, що оптимальний термін пересівання відповідає кінцевому етапу експоненційної фази росту і максимуму ферментативної активності.

Визначено хімічний склад міцелію і плодових тіл *L.edodes*, які одержані на виноградної вичавці.

**Практична значимість.** Розроблено біотехнологію виробництва посівного міцелію і плодкових тіл *L.edodes* на виноградній вичавці. В промислових умовах цеху посівного міцелію Сімферопольської ТЕЦ організовано виробництво міцелію *L.edodes*. Здійснено промислове напрацювання міцелію *L.edodes* і його оцінка на продуктивність.

Розроблено технологічний регламент одержання комерційного міцелію *L.edodes*, технологічна інструкція і технічні умови на комерційний міцелій і плодове тіла *L.edodes*.

Розрахунковий економічний ефект від створення нової технології з переробки виноградної вичавки шляхом використання аутлого базидіального гриба *L.edodes* складає 1730 грн. на кожну тунну грибів. Річний об'єм прибутку складає 18540 грн. за потужності цеху 3000 кг.

**Індивідуальний внесок пошукувача.** Індивідуальний внесок дисертанта в розробку наукових результатів, які висесено на захист, складає не менше ніж 70 %.

**Апробація роботи.** Основні положення і результати роботи повідомлено на засіданнях секції Вченої Ради з виноробства ІВІВ "Магарач" (Ялта, 1992-1997 рр.).

Результати досліджень, які включено в дисертацію, були повідомлені на міжнародних науково-практичних конференціях (Вінниця, 1995; Київ, 1996; Кишинів, 1996; Київ, 1997; Донецьк, 1997); науково-практичних конференціях молодих вчених і спеціалістів (Ялта, 1992-1996).

**Публікації.** За матеріалами дисертації надруковано 6 публікацій, в тому числі 1 стаття в журналі, 1 - в збірнику наукових робіт та 4 - в матеріалах наукових конференцій. Отримано 3 постановних рішення на видачу патентів України.

**Структура та об'єм дисертації.** Дисертація складається з такої структури: вступ, огляд літератури, експериментальна частина (складається з 4 підрозділів), результати досліджень, список використаної літератури, додаток.

Основний зміст дисертації викладено на 126 сторінках друкованого тексту, зміщує 18 таблиць та 22 рисунки. В дисертації 10 додатків. У списку використаної літератури наведено 136 джерел, в тому числі 56 - іноземних.

Пошукувач вважає своїм прийнятним обов'язком висловити велику подяку д.б.н. Ніні Аватоміівні Бісько з Інституту ботаніки НАН України за постійну увагу до роботи, за надані штампі грибів

*L.edodes*, коно, в стативну допомогу в обговоренні аналізів експериментальних досліджень.

На захист виносяться такі головні положення:

- принципова можливість культивування гриба *L.edodes* на виноградній вичавці;
- законсмірності біосинтетичної активності і споживання плодових джерел харчування культурою *L.edodes* під час вирощування на екстракті з виноградної вичавки;
- технологія і режими одержання посівного матеріалу грибів *L.edodes* на виноградній вичавці;
- технологія і режими одержання плодових тіл гриба *L.edodes* на виноградній вичавці.

**Об'єкти та методи досліджень.** Об'єктами досліджень були: 17 штамів культури їстівного гриба *Lentinus edodes* (Berk.) Sing, виноградна вичавка та водний екстракт з неї.

Культури *L.edodes* отримано із спеціалізованої колекції видих базидіоміцетів Інституту ботаніки ім. М.П.Холодного НАН України. Підтримку колекції *L.edodes* здійснювали шляхом періодичного (1 раз на 8 місяців) пересіву на густе поживне середовище на основі агаризованого безхмільного пивного сусла.

Посівний матеріал готували шляхом пересіву культури з мушею в пробірку чи чашку Петрі з густим поживним середовищем на основі агаризованого безхмільного сусла (Підоплічю, 1953).

У дослідках з визначення швидкості росту *L.edodes*, як густі поживні середовища використовували агаризоване безхмільне пивне сусло (Підоплічю, 1953), агаризований екстракт з виноградних вичавок (А.С. 1815353. Додаткове середовище для вирощування культур), агаризовані виноградні вичавки.

Твердосубстратне культивування здійснювали на виноградній вичавці, яку одержано після переробки винограду на типових лініях РПЛ-20 і висушено на агрегатах АВМ-0,85.

Під час проведення порівняльної характеристики росту досліджуваної культури *L.edodes* на виноградній вичавці в експерименті використано класичні субстрати (контроль): зерно злакових культур (пшениця) - для приготування посівного матеріалу; тирса листяних порід дерев і солома злакових культур - як основний субстрат для одержання плодових тіл *L.edodes* (Дудка та ін., 1993).

Досліді з глибинного культивування в рідкому середовищі

проведено в використанні пивного бусла (8 °Balling), яке є універсальним поживним середовищем для культивування вищих базидіоміцетів (Букало А.С., 1988); а також екстракту з виноградних вищавок, який приготовано за методом ІВІВ "Магарач" (Садігов, 1983).

Мікробіологічні методи, які застосовано під час виконання цього дослідження, є загальноприйнятими для роботи з чистими культурами непатогенних мікроорганізмів, у тому числі міцеліальних грибів (Мейнелл, 1967; Камкін, Єлінов, 1968; Методи експериментальної мікології, 1983).

Дослідження хімічного складу міцелію і плодових тіл грибів здійснено після їх попереднього просушування за температури 60 °С. Одержані результати перераховано на абсолютно суху масу, яку визначали після висушування зразків промитого міцелію у відкаліброваних скляних флаконах за температури 105 °С (Камкін та ін., 1968).

Аналітичні та біохімічні визначення проведено у 3 повторностях із використанням стандартних і загальноприйнятих фізико-хімічних і біохімічних методів, які викладено у галузевій і науково-технічній літературі.

Статистичну оцінку відтворюваності експериментальних даних здійснювали за дисперсією відтворення дослідних даних із врахуванням повторень за критерієм Кокрена, значення якого прийнято для рівня значимості 0,05 для певного числа ступеней свободи.

Експерименти з оптимізації процесу ставили згідно з методом дробно-факторного експерименту (ДФЕ), оптимізацію функції відгуку проводили за методом Бокса-Вільсона.

## РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕНЬ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

### 1. Скринінг штамів *L. edodes* на твердих і рідких відходах переробки винограду

Враховуючи, що дослідження з культивування *L. edodes* на виноградній вищавці проводяться вперше, на першому етапі було проведено скринінг 17 штамів цієї культури.

З метою відбору найбільш перспективних штамів, скринінг проводили на густих і рідких поживних середовищах, що вміщують у собі тверді відходи переробки винограду. Під час відбору врахову-

вали показники росту на досліджуваних середовищах (роковий коефіцієнт - РК, швидкість обростання субстрату), а також індекс мікогенного ксилोलізу і показник накопичення білка, які характеризують ефективність біотрансформації виноградної вичавки.

Аналіз одержаних результатів дозволив відібрати 3 штами - 355, 364 і 369, які мали високі ростові характеристики (РК та швидкість росту) на суусло-агаровому середовищі і агаризованих середовищах, що зміщують відходи переробки винограду (табл. 1.1), причому для 364 і 369 штамів спостерігались однакові показники РК на суусло-агарі і агаризованій виноградній вичавці, що вказує на перспективність використання їх для утилізації виноградної вичавки.

Для інших штамів показник швидкості росту на густих середовищах спостерігався в межах 5-6 мм/добу.

Таблиця 1.1 - Ріст штамів *L.edodes* на густих поживних середовищах

Штам N	Агаризоване пилене суусло		Агаризований екстракт з виноградних вичавок		Агаризована виноградна вичавка	
	приріст, мм/добу	РК	приріст, мм/добу	РК	приріст, мм/добу	РК
355	8,9	52,2	5,87	35,2	7,10	42,6
364	7,43	44,6	6,83	41,6	7,43	44,6
369	7,66	46,0	6,83	41,0	7,77	46,6

Окиснення штамів *L.edodes* у глибинній культурі виконували за показником накопичення біомаси. Культивування здійснювали на водному екстракті з виноградних вичавок в гідромодуль 10.0 протягом 5 діб за температури 28 °С.

Результати проведеного експерименту показали, що більшість штамів *L.edodes* в умовах експерименту накопичують біомасу в межах 2.0-2.5 г/дм<sup>3</sup> в.с.р. і лише три штами - 355, 364, 369 здатні до підвищеного накопичення біомаси під час глибинного культивування на екстракті з виноградних вичавок (табл. 1.2). Високе значення економічного коефіцієнту (за редуруючими речовинами - РР) дозволило припустити, що ріст культури йде за рахунок редуруючих речовин субстрату - екстракту з виноградних вичавок.

Таблиця 1.2 - Накопичення біомаси культурою *L.edodes* під час культивування на екстракті з виноградних вицавок (5 діб)

Штами	Вміст в культуральних фільтратах, г/дм <sup>3</sup>			Економічний коефіцієнт
	біомаса	PP	CP	
355	4,08	9,8	16,6	0,66
364	3,54	9,2	13,5	0,59
369	4,63	10,2	14,0	0,82
початковий екстракт		16,0	35,0	

Оцінка досліджуваних штамів *L.edodes* за здібністю до ефектної біодеструкції виноградної вицавки дозволила встановити, що всі штами здібні до деструкції лігніну, причому, ріст 355, 364, 369 штамів супроводжується найбільш значною біодеструкцією - до 16 % (табл. 1.3). Індекс мікогенного ксилолізу (ІМК) при цьому був в 1,5 разів меншим, ніж в інших досліджуваних штамках. З цим показником узгоджується збільшення розрахункового показника змісту сирого протеїну (за аэотом) в 7-8 разів, тоді як в решти штамів цей показник збільшувався в 4-5 разів. Одержані результати вказують на здібність відібраних штамів до накопичення великої кількості сирого протеїну (9-10 %) у порівнянні з іншими досліджуваними штамми (5-6 %).

Таким чином, аналіз проведених досліджень за скринінгом штамів *L.edodes* дозволяє стверджувати, що 355, 364 і 369 штами мають здатність до максимального накопичення біомаси, високої швидкості росту і характеризуються низьким індексом мікогенного ксилолізу, що в свою чергу дозволило рекомендувати їх для наступних досліджень з розробки технології одержання посівного міцелію на виноградної вицавці.

Таблиця 1.3. Зміна складу субстрату в процесі культивування штаміа *L.edodes* на виноградній вичавці, % а.с.м.

Штам	Лігнін	Полісахариди			Загальний авст	Сирий протеїн Nх4,38	Індекс мікогенного ксилолізу
		ЛГ	ВГ	Сума			
355	56,8	29,3	7,1	36,4	2,3	10,0	0,44
364	57,2	28,1	8,5	36,6	2,1	9,2	0,41
369	58,4	26,6	8,5	35,1	2,8	10,3	0,44
Вміст у початковому субстраті							
	57,6	15,9	15,7	31,6	0,3	1,3	

## 2. Розробка технології виробництва посівного міцелію *L.edodes*

Важливим моментом розробки біотехнології культивування *L.edodes* на виноградній вичавці є одержання активного посівного матеріалу.

З цією метою були проведені порівняльні дослідження двох способів стримування посівного міцелію *L.edodes*: шляхом твердо-субстратного культивування та в глибинній культурі.

Попередні дослідження показали (табл. 1.3), що накопичення біомаси штамами *L.edodes* під час глибинного культивування відіюється за рахунок споживання редуруючих речовин. Були проведені дослідження хімічного складу поживного середовища (екстракту з виноградної вичавки) під час росту досліджуваних штамів на 5-у добу культивування (табл. 2.1).

Результати свідчать, що вміст компонентів екстракту з виноградних вичавок, таких як: органічні кислоти, пектин, зникає незалежно, в той час як вміст редуруючих речовин зменшується в 2-3 рази, що підтверджує висновок про залежність накопичення біомаси *L.edodes* від вмісту редуруючих речовин в екстракті.

Оскільки 369 штам активніше, ніж інші трансформував ряд компонентів екстракту із виноградних вичавок, що супроводжувалося найбільшим накопиченням біомаси, він був використаний у наступних дослідженнях.

Таблиця 2.1 - Зміна хімічного складу поживного середовища під час глибинного культивування штамів *L. edodes*

Компоненти і показники	Значення показників в середовищі для штамів			
	початковий	після культивування		
		355	364	369
pH	4,50	4,40	4,50	4,40
Масова концентрація (г/дм <sup>3</sup> ):				
сухих речовин	16,00	10,90	9,00	8,70
редуючих речовин	5,00	1,70	1,40	1,90
фенольних речовин	0,30	0,10	0,10	0,08
полісахаридів	0,58	1,57	1,73	1,26
білка	0,07	0,11	0,08	0,10
органічних кислот	3,00	2,30	2,80	2,60
пектину	0,15	0,09	0,11	0,10
біомаси	0,09	4,28	3,76	4,95

Для оптимізації середовища глибинного культивування 369 штаму було здійснено дробно-факторний експеримент за 4 параметрами: масова концентрація сухих речовин, г/дм<sup>3</sup> (x1); початкове значення pH (x2); кількість введених в середовище культивування діамонійфосфату (x3) та подрібнених виноградних вичавок (x4), г/дм<sup>3</sup>.

Оптимізацію середовища культивування проводили за методом Боков-Уілсона. Рух за градієнтом проводили згідно з рівнянням регресії розрахунковим способом, однак кінцеве рішення приймали на основі реального досліду, згідно з яким оптимальний склад поживного середовища культивування виглядає таким чином: вміст сухих речовин в екстракті - 15,9 г/дм<sup>3</sup>, доза діамонійфосфату - 1,8 г/дм<sup>3</sup>, введення подрібненої виноградної вичавки в кількості 1,8 г/дм<sup>3</sup>; корекція pH поживного середовища до 4,9. Вихід біомаси (штам 369) при цьому був 7,3 г/дм<sup>3</sup>, при розрахунковому значенні 6,9 г/дм<sup>3</sup>.

На оптимізованому середовищі було вивчено ріст і динаміку секреції в середовище культури *L. edodes* (штам 369) гідролітичних і окислювальних ферментів з метою обґрунтування термінів пересіву

культурального міцелію на виноградну вичавку.

Виходячи з виявлених закономірностей (рис 2.1), процес глибокого культивування *L.edodes* на екстракті з виноградних вичавок необхідно завершити в кінці експоненціальної фази росту на другу добу культивування (зона максимальної активності ферментів).

Аналіз літературних даних щодо режимів і параметрів вирощування *L.edodes* на різних субстратах дозволив виділити такі важливі технологічні параметри культивування, як температура, рН субстрату, вологість.

Накопичені дані з впливу температури (рис. 2.2), рН субстрату (рис. 2.3) і вологості (рис. 2.4) на швидкість обростання субстрату штамами *L.edodes* дозволили визначити оптимальні показники росту культури на виноградній вичавці для одержання посівного міцелію способом твердосубстратного культивування: температура - 28 °С, рН субстрату 4-5, вологість субстрату - 65 %.

З метою відбору способу отримання посівного міцелію для виробництва плодових тіл *L.edodes* на виноградній вичавці, було проведено ряд експериментів, які показали, що використання міцелію, одержаного способом твердосубстратного культивування, у порівнянні з глибокою культурою у рівновзначних умовах культивування дозволяє одержати більший урожай грибів (табл. 2.2).

Таблиця 2.2 - Вплив способів одержання посівного міцелію на вихід грибів *L.edodes*

Технологічні етапи	Спосіб одержання посівного міцелію	
	ТСК	РСК
Підготовка посівного матеріалу, діб	21-24	2-3
Тривалість обростання виноградної вичавки підо швіву, діб	15-17	12-15
Формування, діб:		
- примордіїв	25-28	28-31
- плодових тіл	32-35	35-40
Біологічна ефективність, %	32	17

Таким чином, для одержання плодових тіл *L.edodes* доцільне використання посівного міцелію 369 штаму, який одержано на виноградній вичавці способом твердосубстратного культивування.

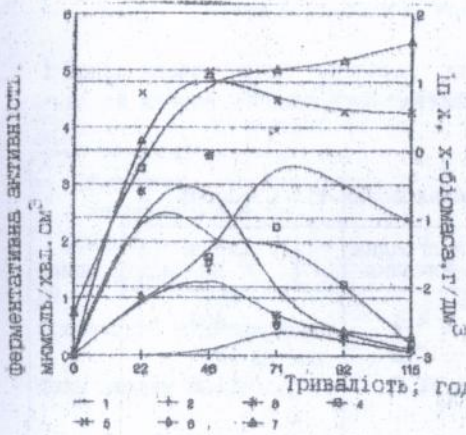


Рис. 2.1 Динаміка секреції ферментів штамом 369 у процесі глибинного культивування

Ферментативна активність, μMOL/L \* 10<sup>6</sup> CM<sup>3</sup>:  
 1 - КММО; 2 - ФП-активність;  
 3 - КМЦ-активність;  
 4 - ендо-1,4-β-глюканаза;  
 5 - протеклітична активність;  
 6 - полігалактуроназа;  
 7 - Іп біомаси, г/дм<sup>3</sup>

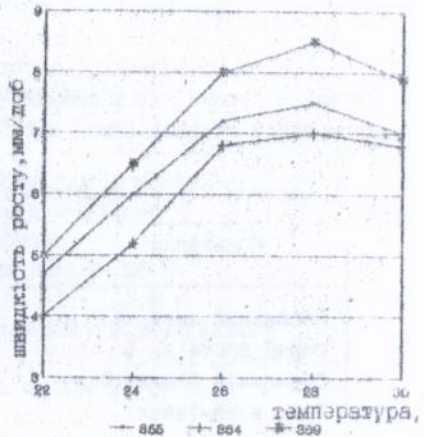


Рис. 2.2 Вплив температури на ріст штамів *L. edodes*

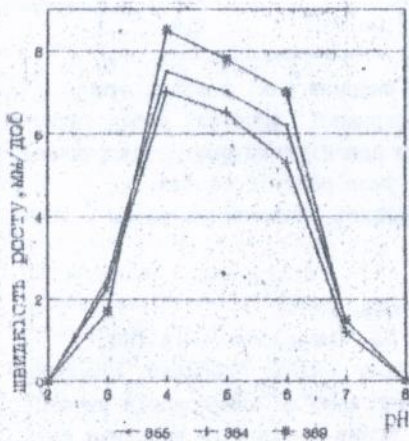


Рис. 2.3 Вплив pH на ріст штамів *L. edodes*

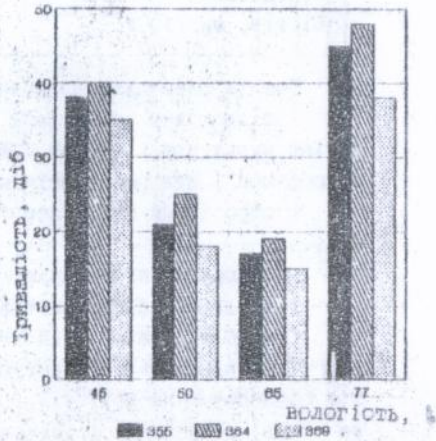


Рис. 2.4 Вплив вологості субстрату на ріст штамів *L. edodes*

### 3. Розробка і апробація технології вирощування плодкових тіл *L.edodes* на виноградній вичавці

Серія проведених досліджень дозволяє сформулювати основні етапи і режими культивування базидіального гриба *L.edodes* на виноградній вичавці (рис. 3.1).

Таблиця 3.1 - Характеристика плодкових тіл *L.edodes*

Показники	Виноградна вичавка	Тирса
Загальний азот, %	4,1	3,0
Сирий протеїн, %	17,8	13,4
Справжній білок, %	12,5	11,2
Сума незамінних амінокислот, г/100г	16,1	17,8
Сума амінокислот, г/100г	50,3	49,6
Калій, мг/100г	700,0	380,0
Натрій, мг/100г	61,0	19,0
Кальцій, мг/100г	105,0	118,0
Залізо, мг/100г	8,5	4,0
Тіамін, мкг/100г	195,0	78,0
Піридоксин, мкг/100г	88,7	101,0
Біотин, мкг/100г	12,0	3,8

Стадія одержання плодкових тіл включає такі головні етапи:

- підготовка субстрату (виноградної вичавки) перед інкуляцією культурою *L.edodes*, з метою пригнічення росту сторонньої мікрофлори і створення оптимальних умов росту *L.edodes*;

- оброблення субстрату (виноградної вичавки) міцелієм *L.edodes*;

- утворення примордіїв;

- утворення плодкових тіл *L.edodes*.

Розроблена технологія втілена на Сімферопольській ТЕЦ.

Було проведено оцінку хімічного складу одержаних плодкових тіл *L.edodes*. Плодові тіла, які вирощено на виноградній вичавці на основі розробленої технології, можна розглядати як цінне джерело мінеральних елементів і вітамінів, а також амінокислот складної білкової компоненти (табл. 3.1).

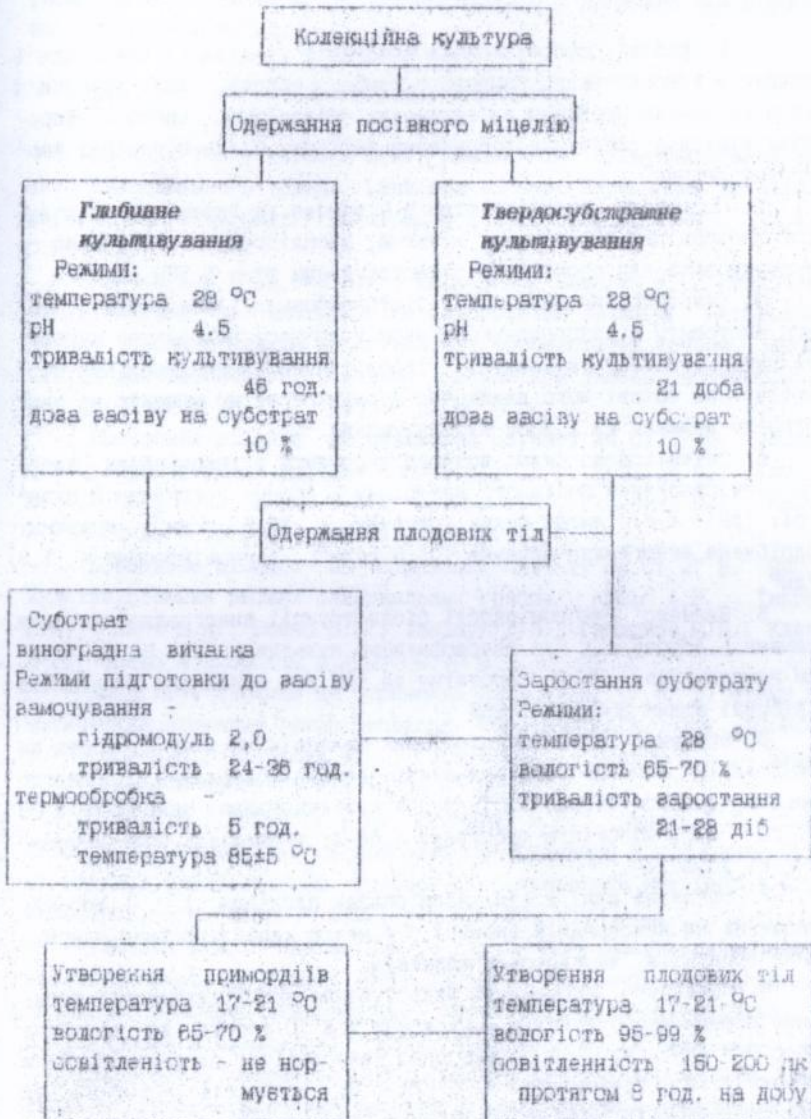


Рис. 3.1 Технологічна схема виробництва грибів *L. edodes* на виноградній вищавці

1. В роботі сформульована концепція утилізації виноградної вичавки з використанням харчового гриба *L.edodes*, яка визначила шляхи вирішення проблеми забезпечення екологічної чистоти переробки відходів галузі та поповнення дефіциту білка в раціоні харчування людини.

2. Проведено скринінг штамів *L.edodes* за адатністю активної біотрансформації виноградної вичавки, внаслідок чого відібрано і рекомендовано для промислового застосування штам N 369.

3. Виявлено закономірності біотрансформації компонентів водного екстракту з виноградної вичавки у процесі глибинного культивування *L.edodes* та секреції гідролітичних і окислювальних ферментів, на основі чого визначено термін пересіву міцелію на виноградної вичавку на 2 добу культивування.

4. Оптимізовано склад водного екстракту з виноградної вичавки для одержання посівного матеріалу *L.edodes* в глибинній культурі: рН - 4,5; вміст сухих речовин - 15,9 г/дм<sup>3</sup>; добавки: подрібнена виноградна вичавка - 1,8 г/дм<sup>3</sup>, діамонійфосфат - 1,8 г/дм<sup>3</sup>.

5. Вивчено закономірності біодеструкції виноградної вичавки штамми *L.edodes* під час твердофазного культивування. За показником накопичення сирого протеїну та ІМК для подальших досліджень відібрані штами 355, 364, 369.

6. Вивчено вплив технологічних факторів на ріст *L.edodes* на виноградної вичавці та визначені режими одержання посівного міцелію способом твердофазного культивування: температура 28 °С; рН - 4,5; вологість субстрату - 85 %; тривалість культивування - 21 доба.

7. Одержані дані з хімічного складу плодів тїл *L.edodes*, вирощених на виноградної вичавці, з метою характеристики одержуваних продуктів, як харчових додатків.

8. Проведено промислові випробування нової технології отримання комерційного міцелію і плодів тїл *L.edodes* на відходах переробки винограду. Випробовано технологічні режими одержання плодів тїл: температура - 17-21 °С; вологість - 95-99 %; освітленість - 150-200 лк протягом 8 год.

9. Внаслідок узагальнення експериментальних даних і промислових випробувань розроблено технологічні інструкції і технічні

умови на виробництво комерційного міцелію і плодівих тіл *L. edodes* на виноградній вищавці.

### СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ РОБІТ

Танащук Т.Н., Бисько Н.А., Клечак Н.И. Культивирование высшего базидиального гриба *Lentinus edodes* (Berk.)Sing на отходах переработки винограда// Виноград и вино России. - 1997. - N 4. - С. 21-22.

Клечак И.Р., Бисько Н.А., Ежов В.Н., Танащук Т.Н. Физиология роста и питания на экотракте из виноградных выжимок// Метсдологические основы познания биологических особенностей грибов - продуцентов физиологически активных соединений пищевых продуктов. - Донецк: Донецк.ун-т. - 1997. - С. 80-83.

Позитивне рішення на отримання патенту 29.01.97 р. Аппарат для культивирования мицелия высших грибов / Коба А.В., Тихонов В.П., Ежов В.Н., Бойко В.А., Танащук Т.Н., Гишвили М.Д., Клечак И.Р. - Заявка N 96093481 від 06.09.96 р.

Позитивне рішення на отримання патенту 29.01.97 р. Способ культивирования высших базидиальных грибов/ Коба А.В., Тихонов В.П., Ежов В.Н., Бойко В.А., Танащук Т.Н., Гишвили М.Д., Клечак И.Р. - Заявка N 96093480 від 06.09.96 р.

Позитивне рішення на отримання патенту 10.07.97 р. Штамм орматических структур гриба *Lentinus edodes* (Berk.)Sing 10.07.97 р./ Ежов В.Н., Танащук Т.Н., Бойко В.А., Клечак И.Р., Бисько Н.А. - Заявка N 95062776 від 14.06.95 р.

Ежов В.Н., Баранова С.В., Гишвили М.Д., Танащук Т.Н., Дадашанов М.Г. Биотехнология производства пищевого и кормового белка из отходов виноделия//Сб. тр. Научно-технический прогресс в Агроиндустрии. - М.-Ялта. - 1997. - С. 86-87.

Танащук Т.Н., Бисько Н.А., Клечак И.Р. Получение поревого материала *Lentinus edodes* (Berk.)Sing на экотракте из виноградной выжимке// Проблемы дендрологии, цветоводства, плодоводства, виноградарства и виноделия. - Ялта. - 1996. - С. 147-148.

Ежов В.Н., Баранова С.В., Танащук Т.Н., Кольцова И.Ф. Базидиальные грибы - источник пищевой и биологической ценности// Труды 111-ей национальной конференции с участием зарубежных ученых. - Кишинев: ООО"Мартынов". - 1996. - С. 15-16.

Ежов В.Н., Танащук Т.Н., Бисюк Н.А., Клечак И.Р., Войко В.А. Биотическое взаимодействие *Lentinus edodes* (Berk.) Sing с популяцией микрофлоры при культивировании на отходах переработки винограда // Тезисы докладов IV конгресса "Биоконверсия органических отходов и охрана окружающей среды". - Киев: Асоц. "Биоконверсия". - 1986. - С. 163.

Умовні позначення:

- PK - ростовий коефіцієнт
- IMK - індекс міксгенного коидолізу
- ICK - твердосубстратне культивування
- PCK - рідкосубстратне культивування
- PP - редукуючі речовини
- ЛГ - легкогідролізована фракція
- ВГ - важкогідролізована фракція
- CP - сухі речовини
- МММ - монофенол-монооксигеназа
- ІП - активність на фільтрувальному папері
- КМЦ - карбоксиметилцелюза

## АННОТАЦІЯ

Танащук Т.М. Розробка біотехнології культивування їстівного гриба *Lentinus edodes* (Berk.) Sing на виноградній вичавці. - Рукопис.

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата технічних наук за спеціальністю 03.00.20 - біотехнологія. - Інститут винограду і вина "Магарач", УААН, Ялта, 1987 р.

Дисертація присвячена питанням культивування вищого базидіального гриба *L.edodes* на виноградній вичавці. Встановлено можливість використання цього відходу виноробної галузі як субстрату для одержання плодових тіл *L.edodes*. Вивчено закономірності росту культури *L.edodes* на виноградній вичавці і екстракті в неї. Розроблено біотехнологію посівного мицелію і плодових тіл *L.edodes* на виноградній вичавці. Дана характеристика хімічного складу одержаних плодових тіл *L.edodes*. Технологію втілено на Сімферопольській ТЕЦ. Економічний ефект складає 1730 грн. на кожну тону грибів. Річний об'єм прибутку складає 18540 грн. при потужності цеху 3000 кг на рік.

Ключові слова: штам, виноградна вичавка, екстракт з виноградних вичавок, накопичення біомаси, швидкість росту, оброблення субстрату, посівний мицелій, плодові тіла.

## АННОТАЦИЯ

Танащук Т.М. Разработка биотехнологии культивирования съедобного гриба *Lentinus edodes* (Berk.) Sing на виноградной выжимке. - Рукопись.

Диссертация на соискание ученой степени кандидата технических наук по специальности 03.00.20 - биотехнология. - Институт винограда и вина "Магарач" УААН, Ялта, 1987.

Диссертация посвящена вопросам культивирования высшего базидиального гриба *Lentinus edodes* (Berk.) Sing на виноградной выжимке. Впервые показана возможность использования отходов винодельческой отрасли в качестве субстратов для получения плодовых тел *L.edodes*. Изучены закономерности роста культуры *L.edodes* на виноградной выжимке и экстракте из нее. Разработана биотехнология посевного мицелия и плодовых тел *L.edodes* на виноградной выжимке. Технология внедрена на Симферопольской ТЭЦ. Дана характеристика химического состава полученных плодовых тел *L.edodes*. Экономичес-

12142

кий эффект составляет 1730 грн.  
 объем прибыли составляет 18540  
 грн.

Ключевые слова: штамм, виноградная выжимка, экотракт из виноградных выжимок, посевной мицелий, плодовые тела, накопление биомассы, скорость роста, обрастание субстрата.

## ANNOTATION

Tanashohuk T.N. Development of the biotechnology for cultivation of food mushrooms *Lentinus edodes* (Berk.)Sing on grape pomace. - A manuscript.

The thesis presented for Candidate of Technical Sciences Degree. Speciality 03.00.20 - Biotechnology. - Institute for Vine and Wine "Magarach"; Yalta, 1997.

The thesis is devoted to the problems of cultivating higher basidial mushrooms *Lentinus edodes* (Berk.)Sing on grape pomace. The possibility of using winery wastes as substrates for the production of *L.edodes* fruitbodies is presented. The characteristics of *L.edodes* growth on grape pomace and grape pomace extract are studied. The biotechnology of production of *L.edodes* commercial mycelia and fruitbodies on grape pomace has been developed. The technology was introduced in the Simferopol heating station. The chemical composition of the obtained fruitbodies has been determined. The economic effect is 1730 hrvn per a ton of mushrooms. The yearly profit amounts to 18540 hrvn, the volume of production being 3000 kg per year.

Key words: strain, grape pomace, grape pomace extract, commercial mycelium, fruitbodies, accumulation of biomass, growth rate, substrate growth.

Відкрито до друку 25.10.97  
 Об'єм друку в замовлення № 229

Формат 60x84 1/16  
 Тираж 100 прим.

Друкарська група ІВІВ "Магарач". Крим, м.Ялта, вул. Кірова, 31