



УКРАЇНА

(19) UA (11) 61042 (13) U
(51) МПК (2011.01)
C12P 21/00
C12R 1/645 (2006.01)

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИ

ДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС ДО ПАТЕНТУ НА КОРИСНУ МОДЕЛЬ

видається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ БІЛОКВІСНОЇ БІОМАСИ ГРИБА PLEUROTUS OSTREATUS

1

(21) u201013860
(22) 22.11.2010
(24) 11.07.2011
(46) 11.07.2011, Бюл.№ 13, 2011 р.
(72) ЗУБАРЕВА ІННА МИХАЙЛІВНА, ЛАПУСТИНА
ОЛЕНА ВОЛОДИМИРІВНА
(73) ДЕРЖАВНИЙ ВИЩИЙ НАВЧАЛЬНИЙ ЗАКЛАД
"УКРАЇНСЬКИЙ ДЕРЖАВНИЙ ХІМІКО-
ТЕХНОЛОГІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ"

2

(57) Спосіб одержання білоквмісної біомаси гриба *Pleurotus ostreatus* шляхом глибинного культивування на поживному середовищі, яке містить джерело вуглецю, азоту та піногасник протягом 92 годин, який **відрізняється** тим, що як джерело вуглецю використовують вівсяне або житнє борошно, попередньо оброблене амілолітичними препаратами ("Альфалад" та "Глюколад") у співвідношенні 1:1000 та 1:200 відповідно, а як джерела азоту використовують соєве молоко.

Корисна модель належить до біотехнології, а саме до мікробіологічної промисловості і може бути використана для промислового виробництва білоквмісної біомаси їстівного гриба *Pleurotus ostreatus* із ароматом і смаком природного гриба харчового та сільськогосподарського призначення.

Відомий спосіб одержання грибного харчового продукту [пат. 2350119 CI РФ, МПК A23L 1/28. Грибной пищевой продукт / Видяпин. В. И., Жарикова Г. Г., Косарева О. А., Мухотдинова С. М., - №2007128250/13; заявл. 24. 07.07; опубл. 27. 03. 09; Бюл. №9], згідно з яким, грибний харчовий продукт містить, попередньо висушені і подрібнені до порошкоподібного стану, окремі плодові тіла гливи або печериці та плодові тіла білого гриба, або попередньо вирошеного міцелію білого гриба при певному співвідношенні компонентів.

Недоліком відомого способу є неможливість досягнення значних обсягів такого грибного продукту, що лімітуються попереднім вирощуванням плодових тіл.

Існує також, спосіб одержання білкової біомаси [пат. 2092559 РФ, МПК C12P21/00, C12N1/14, C12R1/645. Способ получения белковой биомассы / Колесникова В. Ф., Лебеденко В. А. М., - №94006885/13; заявл. 16.02.94; опубл. 10.10.97] шляхом вирощування штаму *Pleurotus ostreatus* ВКІІМF-697 у 100-літровому ферментері в умовах аерації на рідкому пивному суслі (4° за Балінгом), яке містить 0,1 %-ий пептон із добавкою ПАР (кістковий жир або рослинна олія) у кількості 0,1-0,3 % при рН середовища 6,0-7,5.

Недоліком даного способу є значні витрати коштовної ПАР та інших компонентів (пептон, крохмаль, глюкоза).

Відомий спосіб одержання білкової біомаси гриба [пат. 2189395 C2 РФ, МПК C12P21/00, C12N1/14, C12R1/645. Способ получения белковой биомассы гриба / М. Б. Биттеева и др. - №2000120039/13; заявл. 31.07.00; опубл. 20.09.02], згідно з яким, глибинне культивування гриба *Pleurotus ostreatus* 2-204 ВКІІМ F-811 проводять на поживному середовищі, яке містить молочну сироватку, нерафіновану рослинну олію та сірчаноокислий або фосфорноокислий амоній.

Недоліком цього способу є використання неорганічного джерела азоту, який не вважається оптимально придатним для розвитку гливи звичайної.

Найбільш близьким до запропонованої корисної моделі за технічною суттю і результатами, що досягаються, є спосіб одержання білкової біомаси гриба [пат. 2126835 РФ, МПК C12P21/00, C12N1/14, C12R1/645. Способ получения белковой биомассы / Колесникова В. Ф., Пцциаладзе Д. А., - №98104578/13; заявл. 25.03.98; опубл. 27.02.99; Бюл. №6] (прототип), який передбачає проведення глибинної ферментації базидіального гриба *Pleurotus ostreatus* ВКІІМ F-720 на пивному суслі (4° за Балінгом) із додаванням 0,1 %-го пептону та 0,1 %-ої рослинної олії протягом 92 годин. У даному способі запропоновані також інші поживні середовища. Наприклад, соєве борошно та крохмаль; вівсяні пластівці та глюкоза; кукурудзяний

(19) UA (11) 61042 (13) U

екстракт та кукурудзяне борошно або соєве борошно та крохмаль з пептоном.

Недоліком прототипу є незначний вихід (13-20 г/л) біомаси гриба, обумовлений тим, що полісахариди крохмалевмісної сировини лише частково утилізуються продуцентом, а також, до недоліків слід віднести використання продуктів та напівпродуктів харчового призначення.

Задачею запропонованої корисної моделі є розробка та оптимізація поживного середовища для глибинного культивування вищого їстівного гриба *Pleurotus ostreatus* у періодичному режимі для одержання якісного білковмісного продукту зі смаком та ароматом природного гриба харчового та сільськогосподарського призначення.

Поставлена задача вирішується тим, що у відомому способі одержання білкової біомаси гриба *Pleurotus ostreatus* ВКПМ F-720 шляхом глибинного культивування на поживному середовищі, яке містить джерело вуглецю, джерело азоту та піногасник (2 %-а рослинна олія) протягом 92 годин, відповідно до корисної моделі як джерела вуглецю використовують вівсяне або житнє борошно, попередньо оброблене амілолітичними ферментними препаратами "Альфалад" та "Глюколад" у співвідношенні 1:1000 та 1:200 відповідно, а як джерело азоту використовують соєве молоко.

Отримання якісного грибного міцелію залишається в наш час невирішеною проблемою. Саме, глибинний міцелій їстівних грибів відрізняється високим вмістом (до 50 %) білків, незамінних амінокислот, водорозчинних вітамінів. Подібних білковмісних якісних продуктів не вистачає на споживчому ринку.

Важливою задачею є підбір основних та допоміжних субстратів для культивування гриба - продуцента. Одним з якісних субстратів є крохмалевмісна сировина. Але основна речовина подібних субстратів - крохмаль - не утилізується грибом у повній мірі. Тому необхідна попередня обробка сировини для розщеплення крохмалю і переведення його у суміш простих вуглеводів, які легко засвоюються продуцентом, що і забезпечує швидке накопичення якісної міцеліальної біомаси.

Розщеплення крохмалю досягається кислотним або ферментативним гідролізом певної сировини. Кислотний гідроліз має ряд недоліків: накопичуються шкідливі для гриба продукти гідролізу, від яких важко позбавитися; нестабільний якісний та кількісний склад продуктів кислотного гідролізу

та інші недоліки. Ферментативний гідроліз крохмалю, навпаки, відрізняється сукупністю переваг: процес проводиться у "м'яких" зовнішніх умовах; ферментативна реакція короткотривала; використовують незначну кількість ферментного препарату; процес цілеспрямований, так як відомі продукти ферментативної реакції.

Таким чином, для попередньої обробки крохмалевмісної сировини пропонується ферментативний гідроліз певними амілолітичними препаратами.

Наводимо приклад конкретного виконання запропонованої корисної моделі.

Приклад 1. Для приготування поживного середовища як основний субстрат (джерело вуглецю та енергії для гриба) використовують вівсяне борошно, основною речовиною якого є крохмаль. Попереднім розщепленням крохмалю його переводять у суміш простих вуглеводів, які легко засвоюються грибом. Гідроліз крохмалю проводять ферментативними препаратами мікробного походження, а саме "Альфалад" (α -амілаза), та "Глюколад" (глюкоамілаза) Ладижинського заводу, α -амілаза гідролізує крохмаль до декстринів, мальтози і незначної кількості глюкози. Дія глюкоамілази більш глибока, тому основним продуктом гідролізу є глюкоза. Ферментні препарати вносять у співвідношенні 1:1000 та 1:200 відповідно. Отриманий гідролізат вівсяного борошна з 0,5 %-ою концентрацією цукрів використовують як основу для поживного середовища, до якого як джерело азоту вносять соєве молоко, а також 2 % рослинної олії. Середовище розливають у початочні колби об'ємом 250 мл у кількості 50 мл. Стерильне та охолоджене середовище засівають чистою культурою *Pleurotus ostreatus* P-27 (штам 429): Amycel 3000. Глибинне культивування гриба проводять при температурі 26 °C і режимі перемішування 220 об./хв. По закінченні ферментації культуральну рідину центрифугують при 3000 об./хв. для відділення біомаси гриба, яку висушують при 105 °C до постійної ваги. Отримані дані представлені у таблиці.

Приклад 2. Умови проведення експерименту аналогічні прикладу 1. Але як джерело вуглецю та енергії для гриба використовують житнє борошно, яке як і у прикладі 1 попередньо обробляють у тих же умовах.

Джерело вуглецю	Концентрація соєвого молока	Кількість сухої біомаси, г/100 мл
Гідролізат вівсяного борошна	нерозведене	4,16
	розведене у 2 рази	3,20
	розведене у 4 рази	2,10
Гідролізат житнього борошна	нерозведене	3,08
	розведене у 2 рази	2,01
	розведене у 4 рази	1,66

Отримані результати, наведені у таблиці, свідчать, що вихід біомаси гриба вище на гідролізатах вівсяного борошна, ніж на гідролізатах житнього борошна, незалежно від концентрації соєвого молока. Найбільша ж кількість міцелію *Pleurotus ostreatus* накопичується на вівсяному гідролізаті з

додаванням концентрованого соєвого молока (0,43 % азоту) і становить 40 г/л. Накопичення біомаси на вівсяному гідролізаті із соєвим молоком, розведеним удвічі (0,24 %) зменшується на 25 %.

Таким чином, оптимальне поживне середовище містить гідролізат вівсяного борошна з концен-

трацією цукрів 0,5 %, концентроване соєве молоко (0,43 % азоту) та 2 % рослинної олії. Вихід біомаси гриба *Pleurotus ostreatus* на такому поживному середовищі у 2-3 рази вище, ніж у прототипі. Міцелій відрізняється ароматом та смаком, характерним для природного гриба гливи звичайної.

Запропонована корисна модель може бути використана для промислового отримання якісного білковмісного міцелію вищого їстівного гриба *Pleurotus ostreatus* зі смаком та ароматом природного гриба харчового та кормового призначення.