



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 74939

(13) C2

(51) МПК (2006)
A01G 1/04МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІОПИС
ДО ПАТЕНТУ НА ВИНАХІД

(54) ПОСІВНИЙ ЗЕРНОВИЙ МІЦЕЛІЙ БАЗИДІАЛЬНИХ ГРИБІВ, СПОСІБ ЙОГО ОДЕРЖАННЯ, КОМПОЗИЦІЯ, ЩО ВИКОРИСТОВУЄТЬСЯ У СПОСОБІ, ТА СПОСОБИ ВИРОЩУВАННЯ БАЗИДІАЛЬНИХ ГРИБІВ

1

(21) 20040402986

(22) 21.04.2004

(24) 15.02.2006

(46) 15.02.2006, Бюл. № 2, 2006 р.

(72) Соля Василь Васильович, Соля Дмитро Васильович

(73) Соля Василь Васильович, Соля Дмитро Васильович

(56) EP A2 0107911, 09.05.1984

SU 835365, 07.06.1981

RU C2 183056, 10.06.2002

Гарибова Л.В. Грибы в своем саду, - М.: Институт технологических исследований, 1993, с. 89

SU 1512520, 07.10.1989

(57) 1. Спосіб одержання посівного зернового міцелію базидіальних грибів, який включає відбір зерна для інокуляції культурою базидіального гриба, насичення його вологою, стерилізацію, внесення культури гриба та подальшу інкубацію до повного проростання зерна культурою, який **відрізняється** тим, що відбирають зерно злакових або технічних культур, або різнотрав'я діаметром до 2,5 мм зі стійкою до механічної та термічної обробки оболонкою та здійснюють насичення зерен водним розчином, що містить ефективну кількість біологічно-активних речовин, біосинтезуючих, антибактеріальних та фунгіцидних компонентів, регуляторів росту та значення рН до встановлення вологості зерна близько 67-70 % та значення рН близько 7-7,5, зволожене зерно стерилізують, охолоджують та інокують стерильною зерновою маточною базидіальною культурою у співвідношенні не менше 2-3 % на масу інокулянту, після чого інкубують до повного проростання зерна культурою в режимі коливання температури та тиску зі здійсненням аераційно-дифузної продувки, далі на повністю проросле базидіальною культурою зерно послідовно наносять адгезивне покриття та суміш конденсатно-адсорбентних, біосинтезуючих біологічно-активних мінерально-органічних компонентів.

2. Спосіб згідно з п. 1, який **відрізняється** тим, що використовують зерно сорго.

3. Спосіб згідно з п. 1, який **відрізняється** тим, що використовують зерно проса.

2

4. Спосіб згідно з п. 1, який **відрізняється** тим, що насичення зерен здійснюють водним розчином біологічно-активних, біосинтезуючих речовин, антибактеріальних та фунгіцидних компонентів, регуляторів росту та значення рН наступного складу, мас. %:

перманганат калію (регулятор рН)	0,1-0,4
двовуглекислий натрій	3-15
фундазол	0,01-0,02
івін термостійкий (стимулятор росту)	0,1-0,5
крохмаль картопляний	2-5
крохмаль кукурудзяний	4-10
гідроокис кальцію CaOH_2 (регулятор рН)	0,1-0,5
вода питна електроактивована іонами кремнію	решта.

5. Спосіб згідно з будь-яким з попередніх пунктів, який **відрізняється** тим, що стерилізацію зерна здійснюють автоклавуванням.

6. Спосіб згідно з п. 5, який **відрізняється** тим, що зерно автоклавують при температурі 118-121 °С та тиску 1,8-2 атмосфери протягом 1,5 години.

7. Спосіб згідно з будь-яким з попередніх пунктів, який **відрізняється** тим, що простерилізоване зерно охолоджують до 25-30 °С.

8. Спосіб згідно з будь-яким з попередніх пунктів, який **відрізняється** тим, що стартове інкубування здійснюють при відносній вологості 60-65% та температурі 28-29 °С.

9. Спосіб згідно з будь-яким з попередніх пунктів, який **відрізняється** тим, що аераційно-дифузну продувку здійснюють у ламінарному інкубаційному боксі з субстратним навантаженням 120 кг на 1 м² з відносною вологістю 70-75 % та вмістом CO_2 - 18-22 %, азоту - 3 % з двократною оборотністю повітря та температурою 25-26 °С.

10. Спосіб згідно з будь-яким з попередніх пунктів, який **відрізняється** тим, що аераційно-дифузну продувку здійснюють на 5-6-ту добу інкубування.

11. Спосіб згідно з будь-яким з попередніх пунктів, який **відрізняється** тим, що коливання атмосферного тиску та перепад температури здійснюється в межах 45-50 Па і більше та 5-7 °С 1 раз на добу протягом 360 хвилин.

(13) C2

(11) 74939

(19) UA

12. Спосіб згідно з будь-яким з попередніх пунктів, який **відрізняється** тим, що адгезивне покриття наносять у вигляді розчину наступного складу, мас. %:

кондитерський агароїд	2-5
картопляний крохмаль	5-7
кукурудзяний крохмаль	7-12
двовуглекислий натрій	2-5
емістим (стимулятор росту)	1-2
вода питна і електроактивована іонами кремнію	решта.

13. Спосіб згідно з будь-яким з попередніх пунктів, який **відрізняється** тим, що адгезивне покриття наносять на проросле базидіальною культурою зерно розпиленням.

14. Спосіб згідно з будь-яким з попередніх пунктів, який **відрізняється** тим, що наносять пилову суміш конденсатно-адсорбентних біосинтезуючих, біологічно-активних мінерально-органічних компонентів наступного складу, мас. %:

фундазол	0,01-0,04
крохмаль картопляний	10-15
крохмаль кукурудзяний	10-15
гіпс будівельний CaSO_4	50-60
двовуглекислий натрій	2-4
вмістим (стимулятор росту)	1-2
деревне вугілля	3-7.

15. Спосіб згідно з будь-яким з попередніх пунктів, який **відрізняється** тим, що операції нанесення адгезивного та мінерально-органічного біологічно-активного шару здійснюють одноразово.

16. Спосіб згідно з будь-яким з попередніх пунктів, який **відрізняється** тим, що операції нанесення адгезивного та мінерально-органічного біологічно-активного шару здійснюють дворазово.

17. Спосіб згідно з будь-яким з попередніх пунктів, який **відрізняється** тим, що одержують зерновий міцелій глив (*Pleurotus octreatus*).

18. Спосіб згідно з будь-яким з попередніх пунктів 1-16, який **відрізняється** тим, що одержують зерновий міцелій сітаке (*Lentinula edodes*).

19. Посівний зерновий міцелій базидіальних грибів, який **відрізняється** тим, що зерно являє собою дрібні зерна злакових або технічних культур, різнотрав'я зі стійкою до механічної та термічної обробки оболонкою діаметром до 2,5 мм, а пророслі базидіальною культурою зерна мають нанесену на них у вигляді капсули мінерально-органічну конденсатно-поглинаючу оболонку.

20. Посівний зерновий міцелій базидіальних грибів згідно з пунктом 19, який **відрізняється** тим, що зерно являє собою зерно нехлібних злаків.

21. Посівний зерновий міцелій базидіальних грибів згідно з пунктом 19, який **відрізняється** тим, що зерно являє собою зерно проса або сорго.

22. Посівний зерновий міцелій базидіальних грибів згідно з пунктом 19-21, який **відрізняється** тим, що зерно має діаметр 2,5 мм.

23. Посівний зерновий міцелій базидіальних грибів згідно з пунктом 19-22, який **відрізняється** тим, що його одержано згідно зі способом за будь-яким з пунктів 1-18.

24. Посівний зерновий міцелій базидіальних грибів згідно з пунктом 19-23, який **відрізняється** тим, що його використовують для вирощування глив (*Pleurotus octreatus*).

25. Посівний зерновий міцелій базидіальних грибів згідно з пунктом 19-23, який **відрізняється** тим, що його використовують для вирощування сітаке (*Lentinula edodes*).

26. Композиція для насичення дрібних зерен злакових або технічних культур або різнотрав'я при одержанні посівного зернового міцелію базидіальних грибів, яка являє собою водний розчин біологічно-активних, біосинтезуючих речовин, антибактеріальних та фунгіцидних компонентів, регуляторів росту та значення рН наступного складу, мас. %:

перманганат калію (регулятор рН)	0,1-0,4
двовуглекислий натрій	3-15
фундазол	0,01-0,02
івін термостійкий (стимулятор росту)	0,1-0,5
крохмаль картопляний	2-5
крохмаль кукурудзяний	4-10
гідроокис кальцію CaOH_2 (регулятор рН)	0,1-0,5
вода питна, електроактивована іонами кремнію	решта.

27. Спосіб вирощування базидіальних грибів, який **відрізняється** тим, що у субстрат вносять посівний зерновий міцелій базидіальних грибів згідно з будь-яким з пунктів 19-25.

28. Спосіб вирощування базидіальних грибів, який **відрізняється** тим, що у субстрат вносять посівний зерновий міцелій базидіальних грибів, одержаний способом, згідно з будь-яким з пунктів 1-18.

Винахід відноситься до сільського господарства та мікробіологічної промисловості та, зокрема, до мікології, і може бути використаний для промислового вирощування продуктів грибівництва.

Відомий поживний субстрат та спосіб його одержання, для вирощування міцелію базидіальних грибів, при якому зерно хлібних злаків варять або парять 15хв., далі додають гіпс та крейду, після чого суміш засипають у колби і стерилізують. Після цього здійснюють пророщування субстрату міцелієм.

Для вирішення проблеми агрегації (склеювання) зерна при його замочуванні та стерилізації було запропоновано також спосіб одержання засівного зернового міцелію, при якому зерно злаків замочують у воді стерилізують розбухле зерно при умовах, які суттєвою мірою запобігають післяавтоклавній агрегації зерна, після чого здійснюють його інокуляцію культурою гриба та інкубують інокульоване зерно. Запобігання агрегації зерна забезпечується додаванням до або при замочуванні карбонату кальцію (CaCO_3) [EP

0107911 A2, 09.05.1984].

Недоліками наведених вище рішень є те, що для здійснення запропонованих виноходів необхідно або бажано використовувати високоякісне зерно, яке іде на харчові та фуражні цілі, що є економічно недоцільним. Крім того, проварене та зволожене зерно хлібних злаків у процесі термостатного проростання субстрату не захищене від згубного додаткового впливу на міцелій надлишкового конденсату, що призводить до перезволоження ядра крупнозернового міцелію та до інгібування росту гіф базидіальної культури на початковому етапі інкубації, та до подальшого зараження патогенною мікрофлорою в процесі аераційного повітряобміну. Також слід відмітити, що надлишкова волога у ядрі крупнозернового міцелію прискорює процес гіфного зростання (гомогенізації) міцелію при зберіганні, прискорюється поява грибних примордіїв на поверхні міцелію, що зростає, що в свою чергу негативно впливає на енергію проростання посадкового матеріалу при засіві субстрату. Більше того, виготовлений у такий спосіб посівний міцелій є незахищеним від згубного конденсатного впливу та патогенної мікрофлори, як на етапі зберігання посівного зернового міцелію, так і після внесення його у субстрат (після засіву), особливо під час лаг-періоду.

З рівня техніки також відомим є поживний субстрат для вирощування міцелію печериць, який містить зерно хлібних злаків, гіпс, крейду, керамзит та воду і спосіб його приготування. Вказаний субстрат готують наступним чином: зерно насичують водою, розварюють, в розвар додають керамзит (для зниження витрат зерна), суміш кип'ятять, далі охолоджують, перемішують з гіпсом та крейдою (ці добавки регулюють значення рН середовища та виконують роль буфера, що попереджує склеювання зерна) і стерилізують [А.с. СРСР 835365, бюл. № 21, 07.06.1981]. Використання крейди та гіпсу для підвищення адгезивних властивостей інокулянту описано також в [Л.В. Гарибова. Грибы в своем саду, - М.: Институт технологических исследований, 1993, с. 89]. Недоліками вказаного рішення є те, зокрема, що для здійснення виноходу також необхідно використовувати високоякісне зерно, зокрема пшениці, яке іде на харчові та фуражні цілі, що є економічно недоцільним. Більше того, так само, як і в описаному вище рішенні, виготовлений у такий спосіб посівний міцелій є незахищеним від конденсатного впливу та патогенної мікрофлори, як на етапі зберігання посівного зернового міцелію, так і після внесення його у субстрат (після засіву).

Відомим також є спосіб стимулювання росту та захисту від агрегації міцелію їстівних грибів на поживному середовищі, що містить зерно хлібних злаків крейду та гіпс, який відрізняється тим, що у поживне середовище вносять стимулятор росту, розчин селенату натрію [Дараков О., К.:, Наукова думка, 1978, с. 24 SU1512520, 07.10.89].

Недоліками вказаного рішення є те, зокрема, що даний винахід не забезпечує захисту міцелію від згубного впливу субстратного конденсату на перезволоження ядра зерна заявленого злакового міцелію у процесі інкубування інокульованого да-

ним міцелієм субстрату. Також винахід не захищає міцелій після внесення його у зволожений субстрат від ураження патогенною мікрофлорою перезволоженого ядра зерна. Також недоліком є те, що для здійснення виноходу необхідно використовувати високоякісне зерно, зокрема, пшениці, яке іде на харчові та фуражні цілі, що є економічно недоцільним.

Як і у попередніх рішеннях, виготовлений у такий спосіб посівний міцелій є незахищеним від згубного впливу патогенної мікрофлори, наприклад [Trichoderma, Trichurys, Mucor, Pustulium dendroides], не забезпечує можливості довготривалого зберігання посадкового матеріалу та його стійкості до впливу несприятливих зовнішніх факторів, як фізичних, так і біологічних, без втрати біологічної активності (енергії проростання) посадкового матеріалу. Крім того великою є ймовірність контамінації посівного матеріалу конкурентною мікрофлорою після засіву, у процесі адаптації ферментативних систем гриба до нового субстрату (лаг-період), так як білок-вмісні компоненти є легкодоступними поживними речовинами (джерелом азоту та вуглецю) для конкурентної мікрофлори.

Для вирощування грибів, зокрема для стимуляції росту засівних культур, використовуються не тільки білок-вмісні добавки, а також специфічні стимулятори росту. Так, наприклад, описано використання імунофітоциту - етилового ефіру арахідонової кислоти, для скорочення строків культивування та підвищення адаптаційних властивостей культури гриви звичайної [RU 2183056 C2, 10.06.2002]. Однак використання специфічних стимуляторів росту лише частково та незначною мірою вирішує наведені вище проблеми, що виникають у процесі одержання, зберігання та використання засівного міцелію культур базидіальних грибів.

Задача, на вирішення якої направлено даний винахід є усунути недоліки, присутні у відомих технічних рішеннях, шляхом удосконалення способу одержання посівного зернового міцелію базидіальних грибів, та композиції для насичення зерна при здійсненні способу, забезпечити удосконалений посівний зерновий міцелій базидіальних грибів та способи вирощування грибів.

Заявлені технічні рішення відрізняються від відомих аналогів, що виробляють міцелій на зерні хлібних злаків як у технології насичення зерна вологою перед автоклавуванням, так і в заключній інкубаційній стадії дозрівання.

Поставлена задача досягається тим, що використовується дрібне зерно злакових культур з твердою оболонкою, що надійно зберігає цілісність у процесі автоклавування. Дослідами встановлені необхідні параметри придатності зерна для заявленого рішення, а саме: зерно до 2,5мм, з міцною до механічної та термічної обробки поверхнею зернової оболонки. Найбільш придатними для здійснення виноходу виявились дрібні зерна як хлібних злаків, так і насіння технічних культур з твердою зовнішньою оболонкою, стійкою до термоударів у процесі автоклавування. Зокрема насіння сорго, проса, льону, рапсу насіння

різнотрав'я та інших культур у діаметрі до 2,5 мм є придатним для використання у заявленому винаході.

Також класичний метод термічного зволоження зерна попереднім проварюванням, який руйнує зовнішню оболонку зерна було замінено довготривалим насиченням ядра дрібних зерен або насіння вологою та мікроелементами, антибактеріальними та фунгіцидними речовинами, інгредієнтами біосинтезу, стимуляторами росту та регулювання рН зерна.

В якості вказаних вище та дозволених до застосування підходящих інгредієнтів, що можна використовувати для насичення ядра дрібних зерен та насіння є, зокрема такі, як: фумар, фундазол, перманганат (регулятор рН), гетеролуксин, тринатрійфосфат, Беноміл, Івін, Дивостім, Бетастимулін, Агrostимулін, двовуглекислий натрій, гідроокис кальцію CaOH_2 (регулятор рН) та інші. Найбільш придатною та ефективною антибактеріальною та біосинтезуючою і біостимулюючою сумішшю для попереднього насичення ядра зерна та насіння, якбуло встановлено дослідним шляхом є розчин, що має наступний склад інгредієнтів (табл.1), мас. %:

Таблиця №1

Перманганат калію (регулятор рН)	0,1-0,4%	
Двовуглекислий натрій	3-5%	ГОСТ 2156-76
Фундазол	0,01-0,02%	ТУ 2387-026-11365182-97
Івін термостійкий (стимулятор росту)	0,1-0,5%	ТУ Україна 24,2-03-563790-0112002
Крохмаль картопляний	2-5%	ГОСТ 7699-78
Крохмаль кукурудзяний	4-10%	ГОСТ 7697-82
Гідроокис кальцію CaOH_2 (регулятор рН)	0,1-0,5%	ДСТУ-БВ2.7.90-99
Вода питна електроактивована іонами кремнію (вміст Si рівний 10,0мл/л)	решта	Дозволено до використання МОЗ України №5.10/5117 від 12.02.2002.

Також запропоновано спеціальний режим інкубування зерна, інокульованого стерильною зерною маточною базидіальною культурою, до повного проростання зерна культурою, який забезпечує досягнення стерильного внутрішньобаночного аераційного газообміну та коливання температури в дрібнозерновому проростаючому інокулянті. Зі зміною коливання температури та перепаду тиску в ламінарному термостатному боксі відбувалася внутрішньобаночна стерильна аераційно-дифузна продувка, що включає в себе внутрішньобаночне обсушування зерна від сконденсованої води у період стартового інкубування, а також вивільнення проростаючого інокулянту від вуглекислого газу та продуктів

метаболізму базидіоміцетів, які мають інгібуючий вплив на проростаючий інокулят та розвиток гіфних утворень дендроїдного типу.

Завдяки дифузно-аераційній продувці дрібнозернового інокулянта, відсутнє утворення перезвожених та вуглекислих "кишень" у дозріваючому дрібнозерновому міцелії. Перепад температур та внутрішньобаночного тиску сприяють дифузно-конденсатному обсушуванню та кисневому насиченню проростаючого дрібнозернового посівного міцелію та прискореному розвитку гіфних утворень базидіальної культури.

Нанесення на поверхню зерна адгезивної та конденсатно-поглинаючої мінерально-органічної захисної оболонки забезпечує внутрішньозерновий антибактеріальний захист в дрібнозерновому міцелії, не допускається конденсація перезволоження ядра зерна та контамінація клейковинної серцевини зерна конкурентною мікрофлорою. Шляхом створення капсульної конденсатно-адсорбентної оболонки створюється резервуар біосинтезованих ініціюючих інгредієнтів у вигляді біостимулюючого містка активного переходу біоактивованої базидіальної культури у лігнін-целюлозовмісний субстрат.

Далі буде проілюстровано здійснення винаходу на окремих прикладах, які розкривають оптимальні варіанти його здійснення, однак ні в якому разі не обмежують його.

Приклад 1. Добір зерна

Дослідами встановлені необхідні параметри придатності зерна для заявленого рішення, а саме: зерно до 2,5мм, з міцною до механічної та термічної обробки поверхнею зернової оболонки. Найбільш придатними для здійснення винаходу виявились дрібні зерна як хлібних злаків, так і насіння технічних культур з твердою зовнішньою оболонкою, стійкою до термоударів у процесі автоклавування. Зокрема насіння сорго, проса, льону, рапсу, різнотрав'я та інших культур у діаметрі до 2,5 мм є придатним для використання у заявленому винаході. Дослідами встановлено найбільш прийнятні культури. Ними виявились насіння сорго (ГОСТ 8759-92) та просо (ГОСТ22983-88). Вказані культури показали найбільшу стійкість при автоклавній термообробці, причому вони характеризувалися найбільшою та найвищою розчин-поглинаючою структурою ядра зерна з вище перерахованих, підвищеною аераційною дифузністю, найвищим вмістом кремнію в оболонці зерна що є оптимальною для прискореного проростання базидіальних штамів.

Приклад 2. Підбір оптимального складу розчину для передавтоклавного насичення зерна

Досліди проводились у порівнянні з контрольним крупнозерновим інокулянтом (пшениця) а також з дрібнозерновим інокулянтом (просо). Зволоження зерна здійснювалось методом проварювання згідно з класичною технологічною розробкою, затвердженою Інститутом ботаніки України, а також застосовувався ряд біостимулюючих, антибактеріальних, протигрибкових та біосинтезуючих складів розчину у якості зволожувача дрібнозернового інокулянту (просо), а саме (мас. %):

Склад №1

Оцтова кислота	2%
Охмілене пивне сусло	10%
Дивостим	0,3%
Вода питна ГОСТ 2874 82	решта

Склад №2

Перманганат калію	0,03%
Карбонат кальцію	4%
Відходи соєвої муки	5%
Картопляний крохмаль	6%
Фундазол	0,1%
Вода, активована іонами кремнію (дозволено до використання МОЗ України № 55117 від 12 02 2002)	решта

Склад №3

Гідроокис кальцію (CaOH ₂)	3%
Агростимулін	0,3%
Фумар	0,1%
Відходи шкіряної промисловості - канига (вміст підшлунків забійних тварин)	5%
Вода питна (ГОСТ2874-82)	решта

Склад №4

Кальцинована сода	7%
Деревне вугілля (ТУ 24 1 00274105 010-2001)	2%
Бетастимулін	0,3%
Бенаміл	0,1%
Крохмаль кукурудзяний	5%
Вода питна (ГОСТ2874-82)	решта

Склад № 5

Селенат натрію (Na ₂ SeO ₄) в концентрації 10 ⁴ -10 ⁶ г/л	5мл на 1кг зерна (проса)
Івін	0,1%
Крохмаль картопляний	3%
CaSO ₄	5%
Вода, активована іонами кремнію (дозволено до використання МОЗ України №55117 від 12022002)	решта

Вказані склади розчинів є придатними для передавтоклавного насичення зерна, однак дослідним шляхом було встановлено, що оптимальним є склад розчину, представленого у таблиці № 1.

Для одержання дослідним шляхом оптимально збалансованого складу (див табл. 1) біохімічних компонентів, що сприяють біосинтезу з антибактеріальною, фунгіцидною та біостимулюючими функціями, використовувався розширений діапазон концентрацій інгредієнтів розчину табл.№1. Досліди проводилися методом

порівняльного аналізу з використанням контрольних інокулянтів, необроблених розчином. Використовувалося відкаліброване зерно злакових культур (див приклад 1). Досліди велися методом порівняння впливу різних концентрацій інгредієнтів розчину на швидкість росту базидіальної культури в інкубованому інокулянті. При виготовленні розчину, антибактеріальні та біосинтезуючі компоненти розчиняли у холодній воді (20 - 28°C) до отримання розчину без осаду. Використовувалися інгредієнти, що є дозволеними для використання ДЕРЖ КОМ САНЕПІДЕМ НАГЛЯДОМ.

Ефективність впливу концентрацій розчину оцінювали за швидкістю обростання гіфами базидіальної культури досліджуваних інокулянтів. Візуальним способом було встановлено, що зниження концентрацій антибактеріальних та біостимулюючих інгредієнтів розчину №1 не впливало на швидкість гіф них утворень, ріст гіфів не відрізнявся від контрольної партії, де не застосовувалась внутрішньозернова обробка розчином. Завищений процентний склад інгредієнтів у розчині №1, як показали досліди, інгібував ріст гіфних утворень на початковій стадії термоінкубації та призупиняв ріст гіфів на 5-7 добу. Експериментальне встановлено оптимально збалансований процентний діапазон антибактеріальних та рістрегулюючих інгредієнтів, що надають максимальну стартову активність базидіомицетній культурі у дрібнозерновому інокулянті. Встановлений оптимальний процентний діапазон концентрацій інгредієнтів показаний у таблиці 1 (розчин 1). Оброблений вказаним розчином дрібнозерновий інокулянт у порівнянні з контрольними партіями значно швидше проростав гіфами базидіальної культури. Випередження у порівнянні з контролем складало 2-3мм за добу. Повне гіфне обростання дрібнозернових інокулянтів, інокульованих штамами базидіальних грибів та оброблених розчином №1 відбувалося на 7-9добу. На контрольних зразках, інокульованих тими ж самими штамами, але не оброблених розчином, повне обростання відбувалося на 12-14 добу.

Приклад 3 обробка (насичення) зерна перед автоклавуванням

Обробку зерна розчином здійснювали у наступній послідовності: Зерно злакових культур діаметром 2-2,5мм закладали у ємність та зволожували розчином (див табл. 1) на протязі 36 годин при температурі розчину близько 18-20°C для досягнення оптимальної вологості зерна 67-70% із застосуванням барботування зерна у розчинах стислим повітрям, після чого зволожене зерно центрифугували звільнюючи від поверхневого надлишку вологи. Відмічалось, що у завершальній стадії насичення зерна розчином відбувалися якісні зміни поверхневої оболонки. Зерно набувало виражений золотистий колір, відмічалась присутність хлібного запаху. Насичене розчином зерно зберігало цілісність оболонки. Збільшувався об'єм зерна на 0,2-0,3мм, значення рН зерна становило 7-7,5. підготовлене та оптимально зволожене зерно розфасовували у банки, які закривали кришками, оснащеними бактерицидним тампоном, або закатували м'якою фольгою.

Приклад 4 автоклавовання

Банки з зерном стерилізували автоклавованням при температурі 118-121°C та тиску 1,8-2 атмосфери на протязі 70 хвилин.

Приклад 5 Інокуляція культурою гриба

Охолоджений до 25-30°C інокулянт вносили в ламінарну установку, попередньо оброблену ультрафіолетом (бактерицидна лампа) на протязі 20 хвилин. Після 30 хвилин відстою ламінару, інокулянт інокулювали стерильною зерною маточною базидіальною культурою, наприклад маточною культурою гливи звичайної (штам 451, 453, 716) у співвідношенні 3-5% на масу інокулянту. Інокуляції контрольних та дослідних партій здійснювали одночасно в одному ламінарному потоці однаковими штамами, з однаковим процентом внесення інокулянта на масу інокулянта з використанням однакової технології стерильного пересіву.

Приклад 6 інкубування

Інокульовані банки перетрушували, досягаючи рівномірного розміщення зернового маточного інокуляту по всьому інокулянту. Потім на 3 доби розташовували для стартового проростання в "розгінному" ламінарному боксі з відотною вологістю 60-65%) та температурою 28-29°C, освітленість (контрольна). В зв'язку зі щільністю прилягання дрібнозернового інокулянта в банках та інтенсивним заростанням базидіальною культурою верхньої частини інокулянта в період стартового інкубування, на 5-6 день у нижній частині банок з'являються властиві дрібнозерновому інокулянту конденсатні та вуглекислі "кишені", що локалізують повне заростання зерна базидіальною культурою. Для вирішення даної проблеми, дрібнозерновий проростаючий інокулянт переносять у інкубаційний ламінарний бокс з субстратним навантаженням 120кг на 1 м² з відотною вологістю 70-75% та вмістом CO₂ - 18-22%, азоту - 3% з двократною обертваністю повітря та температурою 25-26°C. Піддослідний проростаючий інокулянт витримували 96 годин в режимі коливання атмосферного тиску в межах 45-50 Па (або 5кг/см³) і більше та температури 5-7°C (період коливання 1 раз на добу по 360 хвилин). Таким чином досягали стерильного внутрішньобаночного аераційного газообміну та коливання температури в дрібнозерновому проростаючому інокулянті. Зі зміною температури та перепаду тиску в ламінарному термостатному боксі відбувалася внутрішньобаночна стерильнааераційно-дифузна продувка, що включає в себе внутрішньобаночне обсушування зерна від сконденсованої вологи у період стартового інкубування, а також вивільнення проростаючого інокулянту від вуглекислого газу та продуктів метаболізму базидіоміцетів, які мають інгібуючий вплив на проростаючий інокулят та розвиток гіфних утворень дендрітного типу.

На відміну від контрольного інокулянту (просо), що вирощувався без ламінарної дифузно-аераційної продувки, завдяки дифузно-аераційній продувці дрібнозернового інокулянта, відсутнє утворення перезвожених та вуглекислих "кишень" у дозріваючому дрібнозерновому міцелії, що мало місце у контролі. Перепад температур та

внутрішньобаночного тиску сприяли дифузно-конденсатному обсушуванню та кисневому насиченню проростаючого дрібнозернового посівного міцелію та прискореному розвитку гіфних утворень базидіальної культури.

Приклад 7 нанесення адгезивного шару

На поверхню зерна, після того, як воно повністю проросло базидіальною культурою (див приклад 6), наносили адгезивне покриття, яке покривало зерно плівкою у вигляді капсули для подальшої "інкрустації" клейкої поверхні утвореної капсули пористим конденсатно-адсорбентними та біо стимулюючими мінерально-органічними компонентами. Для нанесення плівкоутворюючої капсули на зерно, застосовували як питну воду (ГОСТ 2874-82), так і різноманітні органічні сполуки, що характеризуються адгезивними властивостями, у концентрації, що дозволяє дисперсну пильверизацію плівкоутворюючого середовища. До таких речовин, зокрема, відносяться: 2% агаріодний розчин, 2% карбоксиметилцелюлозний розчин, 1,5% пептиновий розчин, 0,03% поліакриламідний розчин, крохмаль фодекс (розробка ІБОН УРСР) та інші. Вище вказані зв'язуючі інгредієнти можуть бути використані при здійсненні винаходу, однак вони не мають надійної зкріплюючої основи. Нанесена адсорбентна оболонка при механічному обволіканні частково руйнувалась і для усунення хиб мінерально-адсорбентної оболонки була потреба у повторному дисперсному зволоженні зруйнованої оболонки і додатковому обволіканні адсорбентом. Найбільш технологічно в'язким, клейким плівкоутворювачем, придатним для використання у винаході, як було встановлено дослідним шляхом, є плівкоутворюючий розчин наступного складу мас. %:

Таблиця 2

Кондитерський агаріод	2 - 5%	ТУ-15-04-454-79
Картопляний крохмаль	5 - 7%	ГОСТ 7699-78
Кукурудзяний крохмаль	7 - 12%	ГОСТ 7797-82
Харчовий желатин	2 - 4%	ГОСТ 11293-89
Двовуглекислий натрій	2 - 5%	ГОСТ 2156-76
Вмістим (стимулятор росту)	1 - 2%	ТУ-У 88.264.021-95
Вода питна електроактивована іонами кремнію (вміст Si рівний 10,0мл/л)	решта	Дозволено до використання МОЗ України №5.10/5117 від 12.02.2002.

Плівкоутворюючий розчин бажано наносити на проросле культурою зерно у ламінарних умовах при умовах, що забезпечують стерильність. На поверхню пророслого базидіальною культурою насіння аерозольним способом наносився розчин, який покривав зерно плівкою у вигляді липкої капсули.

Приклад 8 нанесення пористого конденсатно-адсорбентного та біостимулюючого мінерально-органічного покриття

Після нанесення на поверхню зерна адгезивного покриття, яке покривало зерно плівкою у вигляді липкої капсули (див приклад 7), зерно перемішували з баластною сумішшю конденсатно-адсорбентних мінерально-органічних речовин і у обертаючомуся дражераторі сухі компоненти обволікали поверхню клейкої капсули, поступово ущільнюючись у гомогенний пористий адсорбентний кокон з товщиною оболонки близько 1мм. У якості сухого адсорбентного антибактеріального мінерально-органічного пористого баласту з компонентами ініціації ростових процесів найбільш придатною для використання у заявленому винаході виявилася мінерально-органічна суміш, що складається з сухих подрібнених біоорганічних та мінеральних інгредієнтів наступного складу, мас. %:

Таблиця 3

Фундазол	0,01-0,04%	ТУ 2387-026-11365182-97
Крохмаль картопляний	10-15%	ГОСТ 7699-78
Крохмаль кукурудзяний	10-15%	ГОСТ 7697-82
Гіпс будівельний CaSO ₄	50-60%	ДСТУ Б.В. 2.782-99
Двовуглекислий натрій	2-4%	ГОСТ 7697-82
Вмістим (стимулятор росту)	1-2%	ТУ-У 88.264.021-95
Деревне вугілля	3-7%	ТУ 24.1.00274105.010-2001

Операцію нанесення як адгезивного, так і мінерально-органічного біологічно активного шару можна здійснювати як одноразово, так і дворазово.

Приклад 9. Біологічна активність дрібнозернового міцелію

Дослідження на предмет біологічної активності дрібнозернового міцелію «Перемога» у капсульно-адсорбентній мінерально-органічній оболонці, згідно зі способом, у порівнянні з аналогами проводили на лігнін-целюлозовмісному субстраті, що пройшов класичну термічну, ферментативну обробку. У якості сировини використовувалась лузга соняшника у суміші з подрібненою соломою пшениці у співвідношенні 1:1. Вологість комбінованого субстрату 65-70%, вміст азоту 1,5%, рН 5,5 - 6,5. Інокуляцію здійснювали досліджуваним дрібнозерновим міцелієм «Перемога». Контрольний міцелій (стандартний крупнозерновий інокулянт, виготовлений по технології Інституту ботаніки НАНУ). Інокуляцію субстрату здійснювали в стерильному потоці повітря дрібнозерновим міцелієм «Перемога» (зерно проса) та контрольним крупнозерновим міцелієм з хлібного злаку (озимої пшениці) одночасно в од-

ному приміщенні в однакові за розміром пакувальні поліетиленові пакети з внесенням інокулянту 1,5-3% на масу вологого субстрату 15-16 кг. Дотримувалися єдиної технології поширової інокуляції з використанням однакових штамів. Інкубували інокульовані субстрати в одному термостатному боксі з вологістю 65-70% з біологічним субстратним навантаженням 160 кг/м², вміст CO₂ 18-20%, азоту 3%, освітленість контрольна, з двократною обертуваністю біологічно фільтрованого повітря в боксі 40-50м³/т. Перші 72 години витримували інокульовані субстратні блоки при температурі 26-28°C, потім знижували температуру в термостатному боксі, витримували оптимальну температуру в субстратах 25-27°C. Після 288 годин здійснювали інспекцію досліджуваних субстратів, інокульованих штамми 451, 453, 716. В перших партіях з 1,5%-им внесенням міцелію на масу вологого субстрату встановлено: контрольні блоки інокульовані стандартним крупнозерновим пшеничним міцелієм штам 451, 453, 716 були заражені бактеріальними інфекціями та пліснявими грибами [Mucor, Trichoderma, Dactylium dendroides] частково 30%. 60% по всій нижній окружності субстрату. 10% субстратних блоків на 15 добу не досягли повної стадії дозрівання (проростання). Досліджувані блоки, інокульовані 1,5%-им дрібнозерновим міцелієм «Перемога», згідно з винаходом (штам 451, 453, 716), в середньому були заражені на 5-10%, при цьому, 90% субстратних блоків досягли повного проростання як в середині, так і по всій площині, покритися гіфами базидіальних культур з утворенням чайнодраглистого нальоту та були готові для переносу в вегетативне приміщення. Візуально досліджували субстрати, інокульовані 3%-им міцелієм на масу вологого субстрату. Дослідження проводили на 15 й 22 добу. Контрольні блоки вагою 15-16 кг інокульовані крупнозерновим пшеничним міцелієм штамми 451, 453, 716 були бактеріально заражені на 15-20% (штам 453), 9-12% (штам 451), 18-20% (штам 716). На нижніх частинах відмічалось перезволоження та закисання субстрату, а також значна конденсатна зволоженість поверхневої частини блоків (мішків). Близько 80% субстратів, крупнозерновим міцелієм штамів не досягли стадії повного дозрівання.

Дослідили субстратні блоки (вага 15-16 кг), інокульовані дрібнозерновим міцелієм «Перемога» в капсульній конденсатно-адсорбентній мінерально-органічній оболонці (штам 451, 453, 716). Досліди показали наступні результати: бактеріальне зараження на субстратних блоках склало 2% (штам 451), 3-5% (штам 453), 5-7% (штам 716). Майже 90% блоків повністю покритися білим з буродраглистими вкрапленнями та досягли ступеня повної зрілості. Дослідили контрольні та дослідні блоки на 22 добу. Встановлено, що 68-70% контрольних субстратів досягли повного ступеня зрілості, однак мають незначне бактеріальне зараження. 30-35% утилізовано з урахуванням тих, що були заражені пліснявими грибами [Mucor, Trichoderma, Trichurys, Dactylium dendroides]. Субстрати, що було інокульовано дрібнозерновим міцелієм «Перемога» (штам 451, 453, 716) на 22 добу спостерігалось утворення грибних примордіїв

в перфорованих отворах плівкової субстратної упаковки. Спостерігалася бактеріальна стійкість міцелію в субстраті, навіть при бактеріальній зараженості інкубаційного боксу. Відмічалось значно коротші терміни дозрівання інокульованих субстратів біологічно-активним дрібнозерновим міцелієм в капсульній конденсатно-адсорбентній мінерально-органічній оболонці.

Досліджували також врожайність біомаси грибів на масу субстрату. Встановлено, що врожайність грибів контрольних субстратних блоків, інокульованих звичайним крупнозерновим пшеничним міцелієм у кількості 1,5-3% на масу субстрату склала 25-30% з трьох ротацій плодоношення. Врожайність грибів з субстрату інокульованого дрібнозерновим міцелієм «Перемога» (при тій самій кількості внесення міцелію на масу субстрату) склала 35-40%. З трьох ротацій плодоношення завдяки ініціації рістрегулюючих процесів та біо синтезуючих інгредієнтів, що присутні в дрібнозерновому міцелії «Перемога». Скорочено цикл ротаційних вегетацій у порівнянні з контрольними субстратами на 96-120 годин, тим самим збільшено вегетаційну обіговість вирослих приміщень. Вказані дослідження чітко показали переваги запропонованого дрібнозернового міцелію «Перемога» в капсульній конденсатно-адсорбентній мінерально-органічній оболонці перед аналогами. Запропонований міцелій значно переважає крупнозерновий інокулят хлібних злаків як за біологічною активністю та антиконденсатною і антибактеріальною стійкістю та забезпечує виробничу економічність процесу вирощування базидіальних грибів.

Нанесена на пророщене зерно клейка капсула у вигляді плівки вкрита пористою адсорбентно-гомогенізуючою мінерально-органічною захисною оболонкою захищає розвиток гіф базидіальної культури від конденсатного інгібування, що виникає у процесі геміцелюлозної деструкції субстрату базидіоміцетами, що супроводжується інтенсивним тепловиділенням та утворенням надлишкової вологи, як в субстраті так і на внутрішній поверхні субстратної упаковки. Дослідами підтверджено, що конденсатне перезволоження серцевини зерна хлібних злаків є основною причиною зараження патогенними грибами типу *Mucor*, *Trichoderma*, *Trichurus*, *Dactulium dendroides*, як залишкового зерна, що є у злаковій сировині, так і внесеного в субстрат у вигляді посівного інокуляту крупнозернового міцелію.

Надлишковий конденсат адсорбується в ядро зерна хлібних злаків. Зерна набухають, зернова оболонка розривається і клейковина контамінується в умовах не стерильного субстрату. Тим самим створюється поживне середовище для множинних вогнищ інфекції, викликаной конкурентною мікрофлорою, яка присутня або проникає в субстрат в процесі інкубаційного аераційного газообміну субстрату. Створена капсульна плівка на зерна та конденсатно-адсорбентна мінерально-органічна захисна оболонка нанесена на поверхню капсули блокує негативний процес насичення серцевини зерна вологою. Мінерально-органічна оболонка максимально адсорбує в себе конденсат, локалізує перезволоження та бактеріальне

бродіння в ядрі зерна. Тим самим створюється біологічна чистота в інокуляті і фітосанітарні умови росту для базидіальної культури в рослинному субстраті. Запропонований дрібнозерновий міцелій з нанесеною капсульною конденсатно-адсорбентною оболонкою, насиченою збалансованими термостійкими біохімічними компонентами ініціації ростових процесів у поєднанні з розчинними інгредієнтами стимуляції росту та сухими рослинними стимуляторами росту, внесеним в оболонку дрібнозернового міцелію інтенсифікують лаг-період контамінації базидіальної інокуляту з лігніно-целюлозою. Внесені в серцевину як зерна, так і в капсульну плівку та в антибактеріальну адсорбентну захисну оболонку компоненти біосинтезу та інтенсифікації стимулюють швидкість зустрічного поєднання гіф дендрітного типу як в міцелії при термостатній обробці так і в субстраті, що інкубується, стимулюючи запуск стартових реакцій процесу проростання. Тим самим інтенсивно інгібується, а потім локалізується вогнище розвитку патогенних мікроорганізмів, що виникають на початковій стадії самої ініційованою бактеріально-захищеною базидіальною культурою в капсульній конденсатно-адсорбентній оболонці.

Збалансований антибактеріальний, біосинтезуючий та біо стимулюючий розчин (див. напр. Розчин №1) для насичення зерна у поєднанні з лужними компонентами сприяють гідролізуючій деструкції поверхневого воскового шару зерна. Інтенсифікують делігніфікацію хітинових оболонок на клітинному рівні та сприяють вивільненню та трансформації продуктів ферментативного розщеплення з серцевини ядра зерна через агаріодну капсулу, що утворює плівку в мінерально-органічну адсорбентну захисну оболонку, а потім в субстрат. Завдяки лужно-гідролізній деструкції воскової оболонки змінюються деревинні властивості воскової оболонки зерна та субстрату, де перебуває міцелій „Перемога“, що в свою чергу сприяє активізації рістрегулюючих процесів базидіальної культури як дрібнозерновому інокулянту, так і в субстраті.

Ядро зерна, плівкова капсула, нанесена конденсатно-адсорбентна мінерально-органічна оболонка є біосинтезованим резервуаром продуктів ферментативного розщеплення, полісахаридів, органічного азоту, що забезпечують стартову біологічну активність дрібнозерновому інокуляту так і інокулянту у період інкубаційної деструкції культурою гриба лігніно-целюлозного субстрату.

Створена обволікаюча капсульна конденсатно-адсорбентна мінерально-органічна антигрибкова та антибактеріальна захисна оболонка у поєднанні з внесеними сухими інгредієнтами стимуляції рістрегулюючих процесів та ініціації гіфних утворень поглинають надлишкову конденсатну вологу і розчиняючись в конденсаті набувають властивостей біосинтезуючого трансформаційного поживного середовища інтенсифікації гіфного переходу базидіальної культури із зерна міцелію в плівкову капсулу, далі, в поживну конденсатно-адсорбентну мінерально-органічну захисну оболонку, а потім, в целюлозовмісний субстрат. Закладена біологічна активність та адаптаційність посівного

дрібнозернового міцелію до субстрату через біосинтезований "місток" поживного середовища нанесеного на плівкову капсулу і адсорбентну оболонку має винахідницький рівень та суттєве технологічне та економічне значення в процесі виробництва лігніно-целюлозовмісних бактеріальних захищених субстратів з мінімальним інкубаційним періодом гіфного проростання, а також у виробництві адаптованого до інокулянту стійкого до патогенної мікрофлори та біологічно активного дрібнозернового міцелію в капсульній адсорбентній мінерально-органічній оболонці.

Техніко-економічна ефективність дрібнозернового міцелію "Перемога" в капсульній конденсатно-адсорбентній мінерально-органічній антибактеріальній та протигрибковій захисній оболонці:

1) завдяки багатоточковості інокуляції субстрату дрібнозерновим міцелієм на 35-40% зменшено необхідну кількість внесення посівного інокулянту в захисній оболонці на масу субстрату.

2) Завдяки відрегульованості рН в дрібнозерновому інокулянті інгредієнтами насичуючого розчину (розчин №1) додатково ініційовано ріст базидіальної культури в період термостатного дозрівання міцелію.

3) Процент зараження субстрату патогенною мікрофлорою зведено до мінімуму, зокрема, завдяки відсутності контамінуючих вогнищ зернового слизу в субстраті.

4) Відпадає необхідність у використанні дорогого та енергоспоживаючого обладнання для проварювання зерна.

5) Знижено собівартість виробництва міцелію, зокрема, завдяки використанню нехлібних злаків та насіння технічних культур.

6) З'явилася можливість довготривалого зберігання дрібнозернового міцелію «Перемога» в капсульній конденсатно-адсорбентній мінерально-органічній захисній оболонці без суттєвого зниження енергії проростання та суттєвого зниження зараження патогенною мікрофлорою.

7) При скороченні проценту внесення запропонованого дрібнозернового міцелію «Перемога» на масу субстрату на третину скорочено інкубаційний цикл пророщування субстрату та збільшено на 15% порівняно з аналогами вихід біомаси грибів.

8) Завдяки присутності біосинтезуючих інгредієнтів в адсорбентній оболонці міцелію "Перемога", що спричиняють деструкцію воскової плівки як зерна, так і злакових субстратів, значно поліпшилось засвоювання біомасою базидіальних грибів розщеплених поживних речовин. Тим самим збільшено вихід біомаси гриба на 14-18% у порівнянні з аналогами.

9) Завдяки присутності збалансованої групи стимуляторів росту як в ядрі зерна так і в нанесеній оболонці, активізовано ріст гіфних утворень базидіальної культури на початковій стадії інкубування субстрату, і тим самим значно скорочено час дозрівання субстрату.

10) Дрібнозерновий міцелій в капсульній конденсатно-адсорбентній мінерально-органічній захисній оболонці стійкий до механічного травмування гіфних утворень і може бути використаний в автоматизованих лініях по виробництву субстрату для вирощування грибів.

При вивченні відомих аналогів в галузі виробництва міцелію з зерна хлібних злаків та аналогічних рішень, не було виявлено застосування підходу в якому використовується нанесення на проросле базидіальною культурою зерно клейкою капсули та пористої конденсатно-адсорбентної мінерально-органічної захисної оболонки. Технологічний метод передавтоклавного зволоження зерна біологічно-активними хімічними елементами суттєво відрізняється від відомих аналогів. Заявлений винахід, який передбачає обволікання дрібнозернових зерен пророслих базидіальною культурою клейкою конденсатно-адсорбентною мінерально-органічною захисною оболонкою наповненою сухими інгредієнтами ферментативного розщеплення та ініціації ростових процесів має винахідницький рівень і може бути використане в промисловості, дозволяє на практиці здійснити заявлений винахід, а також забезпечує практичне застосування всіх його переваг у виробництві дрібнозернового стійкого до патогенної мікрофлори посівного міцелію в капсулі й конденсатно-адсорбентній мінерально-органічній захисній оболонці, так і в виробництві швидкоінкубовного лігніно-целюлозного субстрату для вирощування культивованих базидіальних грибів, таких як, наприклад, глива звичайна, печериця двоспорова, кільцевик, опеньок літній, сітаке та інші.