

МАГІСТЕРСЬКА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

06.10 – МР. 1764 “С” 2020.11.12. 14 ПЗ

ШИРЧЕНКО СВІТЛАНА ЮРІЇВНА

2021 р.

НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ
І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ

Факультет захисту рослин, біотехнології та екології

УДК 602.4:635.89:577.11

ПОГОДЖЕНО

Декан факультету
захисту рослин, біотехнології та
екології

(назва факультету (ФНП))

ДОПУСКАЄТЬСЯ ДО ЗАХИСТУ

Завідувач кафедри
фізіології, біохімії рослин та
біоенергетики

(назва кафедри)

Коломієць Ю.В.

(підпис)

“ ”

2021 р.

(ПІБ)

Прилуцька С.В.

(підпис)

“ ”

2021 р.

(ПІБ)

МАГІСТЕРСЬКА КВАЛІФІКАЦІЙНА РОБОТА

на тему «Отримання та характеристика біополімерних комплексів гливи
звичайної *Pleurotus ostreatus* (Kumm.)»

Спеціальність 162 «Біотехнології та біоінженерія»
(код і назва)

Освітня програма «Екологічна біотехнологія та біоенергетика»
(назва)

Орієнтація освітньої програми освітньо-професійна
(освітньо-професійна або освітньо-наукова)

Гарант освітньої програми

доктор сільськогосподарських наук, професор
(науковий ступінь та вчене звання)

(підпис)

Лісовий М.М.

(ПІБ)

Керівник магістерської кваліфікаційної роботи

доктор біологічних наук, доцент
(науковий ступінь та вчене звання)

(підпис)

Бойко О.А.

(ПІБ)

Виконала

(підпис)

Ширченко С.Ю.

(ПІБ студента)

Київ – 2021

**НАЦІОНАЛЬНИЙ УНІВЕРСИТЕТ БІОРЕСУРСІВ
І ПРИРОДОКОРИСТУВАННЯ УКРАЇНИ**
Факультет захисту рослин, біотехнологій та екології

ЗАТВЕРДЖУЮ

**Завідувач кафедри фізіології, біохімії
рослин та біоенергетики**

ДОКТОР БІОЛОГІЧНИХ НАУК
(науковий ступінь, вчене звання)

Прилуцька С.В.
(ПІБ)

2021 року

ЗАВДАННЯ

**ДО ВИКОНАННЯ МАГІСТЕРСЬКОЇ КВАЛІФІКАЦІЙНОЇ РОБОТИ
СТУДЕНТУ**

Ширченко Світлані Юріївні
(прізвище, ім'я, по батькові)

Спеціальність 162 «Біотехнологія та біоінженерія»
(код і назва)

Освітня програма «Екологічна біотехнологія та біоенергетика»
(назва)

Орієнтація освітньої програми освітньо-професійна
(освітньо-професійна або освітньо-наукова)

Тема магістерської кваліфікаційної роботи «Отримання та характеристика
біополімерних комплексів гливи звичайної *Pleurotus ostreatus* (Kumm.)»
затверджена наказом ректора НУБіП України від “12” листопада 2020 р. № 1764

Термін подання завершеної роботи на кафедру _____
(рік, місяць, число)

Вихідні дані до магістерської кваліфікаційної роботи _____

Перелік питань, що підлягають дослідженню:

1. _____
2. _____
3. _____

Дата видачі завдання “ _____ ” _____ 2021 р.

Керівник магістерської кваліфікаційної роботи _____ **Бойко О.А.**
(підпис) (прізвище та ініціали)

Завдання прийняв до виконання _____ **Ширченко С.Ю.**
(підпис) (прізвище та ініціали студента)

Реферат

Структура та обсяг роботи. Магістерська робота виконана обсягом 53 сторінки формату А4, яка містить 2 таблиці, 13 рисунків та 40 літературних джерел.

Мета роботи: визначити особливості росту *Pleurotus ostreatus* (гливи звичайної) та виділення препаратів біополімерного комплексу та характеристика їхнього складу і властивостей.

Актуальність. Гриби вже давно викликають великий інтерес у багатьох областях харчових продуктів і біофармацевтичних препаратів, вважаються популярними або ефективними ліками, що використовуються для лікування різних захворювань людини, таких як гепатит, гіпертонія, гіперхолестеринемія та рак шлунка.

Гриби є невід'ємною частиною нормального харчування людини, і останнім часом значно зросли обсяги споживання, що включає різноманітні види. Рід *Pleurotus* включає близько 40 різних видів, які прийнято називати «гливи». Серед кількох видів цього роду *Pleurotus ostreatus* (*P. ostreatus*) широко споживається у всьому світі завдяки їх смаку, аромату, високій харчовій цінності та лікувальних властивостей. Через наявність численних поживних композицій та різних активних інгредієнтів у *P. ostreatus*, повідомляється, що вони мають протидіабетичну, антибактеріальну, антихолестеролічну, протиаартритну, антиоксидантну, протипухлинну, оздоровчу та протівірусну дію. У цій роботі особливо розкриваю високу харчову цінність *P. ostreatus* у зв'язку з їх потенційним медичним використанням, що свідчить про те, що гриби *P. ostreatus* є найважливішими функціональними харчовими продуктами.

ЗМІСТ

ВСТУП	6
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ.....	8
1.1. Загальна характеристика <i>Pleurotus ostreatus</i>	8
1.2. Харчова та лікарська цінність <i>Pleurotus ostreatus</i>	11
1.2.1. Поживна цінність гливи	11
1.2.2. Екологічна цінність гливи	15
1.2.3. Лікувальна цінність гливи	17
1.3. Характеристика біополімерів	20
1.3.1. Полісахариди та їх властивості	24
1.3.2. Будова та джерело хітину	27
1.3.3 Грибковий хітин у біомедичному застосуванні	28
1.3.4 Хітиново-глюканний комплекс	29
1.3.5 Меланін	30
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ	33
2.1. Місце проведення досліджень	33
2.2. Матеріали та методи дослідження	34
РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ	39
ВИСНОВКИ.....	47
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ.....	49

ВСТУП

Актуальність. Гриби є важливою складовою нормального раціону людини, і останнім часом, завдяки розширенню асортименту культивованих видів грибів, дещо збільшується і їх попит серед населення. Інтерес привертає рід *Pleurotus*, до складу якого включать близько 40 різних видів. Найбільш відомим представником є *Pleurotus ostreatus* (Глива звичайна, Глива устрична, Устричний гриб) широко вживається у всьому світі завдяки своєму смаку, аромату, високим харчовим цінностям та лікувальним властивостям.

Відомо, що *P. ostreatus* має антидіабетичну, антибактеріальну, антихолестеринову, антиартритну, антиоксиданту, протиракову та противірусну властивості. Слід особливо підкреслити увагу як на високу харчову цінність *P. ostreatus*, так й щодо їх терапевтичного потенціалу, що дозволяє розглядати гриби *P. ostreatus* функціональні продукти харчування. Глива - це корисна їжа, в якій мало калорій і жирів, вони багаті білком, хітином, вітамінами та мінералами. В даний час щорічна виробництво гливи становить 94676 млн тонн і займає 1 місце в Індії та 2 місце в світі [25].

Цей вид грибів є можливим засобом розкладання відходів, наприклад деревини, можна вирощувати їх на різних субстратах. Вирощування грибів устриць стало привабливим і комерційно вигідним по всьому світу. Багато продуктів сільського господарства, такі як рослинні волокна, кокосова пальма та залишки цукрової тростини використовуються як субстрати для вирощування грибів. У Таїланді, устричний гриб культивується переважно на тирсі [2].

В даний час в грибівництві використовується відходи рослинництва..

Найбільш помітну роль в руйнуванні рослинних залишків грають ксилотрофні або дереворуйнівні базидальні гриби, до яких відносяться гриби роду глива. Культивування гливи є найбільш перспективним методом деградації лігноцелюлозних відходів.

Мета роботи: визначити особливості росту *Pleurotus ostreatus* (гливи звичайної) та виділення препаратів біополімерного комплексу та характеристика їхнього складу і властивостей.

Поставлені завдання для виконання магістерської роботи було:

1. Ознайомитися з процесом та умовами культивування *P. ostreatus* в культурі та оволодіти навичками вирощування грибів *in vitro*.
2. Визначити особливості росту *Pleurotus ostreatus* (гливи звичайної) та виділення препаратів біополімерного комплексу та характеристика їхнього складу і властивостей.
3. Встановити вплив біополімерних комплексів та їх стимулюючі властивості на організм.
4. Опрацювати результати проведеної роботи та зробити висновки.

Об'єкт дослідження: отримання біополімерних комплексів.

Предмет дослідження: Біополімерні комплекси *Pleurotus ostreatus* (гливи звичайної).

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Загальна характеристика *Pleurotus ostreatus*

Найбільш відомим представником роду *Pleurotus* є ксилотрофний вид - *Pleurotus ostreatus* (Глива звичайна, Глива устрична, Устричний гриб) (рис. 1.1.).

Таблиця 1.1.

Таксономічне положення *Pleurotus ostreatus*

Царство	Гриби
Відділ (Phylum)	Базидіомікота (<i>Basidiomycota</i>)
Підрозділ (Subphylum)	Агарікомікотна (<i>Agaricomycotina</i>)
Клас	Агарікоміцети (<i>Agaricomycetes</i>)
Підклас	<i>Agaricomycetidae</i> (<i>Agaricomycetidae</i>)
Порядок	Агарікалес (<i>Agaricales</i>)
Сім'я	<i>Pleurotaceae</i> (<i>Pleurotaceae</i>)
Рід	Плеврот (<i>Pleurotus</i>)
Вид	<i>Pleurotus ostreatus</i>

Таблиця 1.1. Таксономічне положення *Pleurotus ostreatus*[11]

Наукова назва: *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) P. Kumm.

Походження назви: *Ostre-*позначає "устриця" і *atus* позначає "схожий" .-

Загальна назва (и): глива.

Розміри: Ковпачки 5-20 і більше см шириною; шпильки 0,5-4 см довжиною і товщиною 0,5-3,5 см.

Зябра: струмові або розбіжні від точки прикріплення; широкий; білуватий, жовтуватий від старості.

Споровий відбиток: від білого до блідо-бузково-сірого.

Стип: іноді відсутній або рудиментарним. Якщо присутній, то бічна до ексцентричного або навіть центральному, якщо плодове тіла знаходяться на вершині колоди або пня; білуватий; волосатий біля основи.

Вуаль: Відсутня.

Їстівність: їстівний.

Назва "глива" відноситься до форми і кольору, а не до смаку. Плодові тіла напівкруглі раковінчаті або віялоподібні, з коротким або відсутнім стеблом. Гливи-це середні і великі гриби, які ростуть від 3 до 25 см в діаметрі і більше. Вони іноді з'являються поодинокі, але частіше плодоносять гронами, що корисно для збирачів [Ошибка! Источник ссылки не найден].



Рис. 1.1. Плодові тіла *Pleurotus ostreatus* [11]

Пілеус устричного гриба є напівкруглим ближче до кругового, в залежності від його положення щодо своєї підкладки. Якщо гриб знаходиться поверх свого субстрату, то ніщо не заважає йому утворити повний круг. Але найчастіше гриб знаходиться на стороні свого субстрату, тому кришка виростає в якості сплющеного кола. Ковпачок опуклий в молодості, але має тенденцію до вирівнювання ближче до зрілості, іноді стає перевернутим.

Його колір сильно варіює, варіюючи від білуватого до сірувато-коричневого, іноді зі слабкими фіолетовими відтінками. Більш темні кольори часто з'являються на ковпачку тонкими радіальними смугами.

Під ним у *P. ostreatus* є зябра, які білуваті до сіруватих і стають жовтуватими з віком. Найпомітніша особливість зябер – це те, що вони мають тривалий протяг, тобто вони дуже далеко спускаються вниз по стіпу. Дуже часто зустрічаються гливи з зябрами, які тягнуться по всій довжині стайпу. Зябра гливи кидають багато спор, тому дуже легко отримати споривий відбиток від цих грибів. Як і інші функції цього гриба, друк спор є змінною за кольором. Різні колекції – штами гриба відкидають білуваті, блідо-жовті або блідо-пурпурові спори [Ошибка! Источник ссылки не найден.].

Стіп *P. ostreatus* слабо розвинений і росте рівно стільки, щоб трохи відсунути ковпачок від субстрату. Він білуватий за кольором і нечіткий під зябрами, якщо між зябрами і підставою залишилося хоч якийсь простір.

Глива є одним з небагатьох видів грибів, які ви можете регулярно знайти в продуктових магазинах. Це пов'язано з тим, що він легко культивується на різних субстратах. *P. ostreatus* буде розкладати практично все, що пов'язано з целюлозою, від обрубків дерев до тирси, соломи та навіть туалетного паперу. Гливи часто продаються в грибних наборах «вирости вдома», які зазвичай запаковані з тирсою. У природі гриби плодоносять з колод або зрубаних «мертвих» деревах. Іноді вони ростуть на землі з погребної деревини. Гливам добре ростуть на листяних породах дерев, але також іноді можуть бути знайдені на хвойних деревах.

Одна з цікавих особливостей *P. ostreatus* полягає в тому, що він вбиває нематод. Коли нематоди присутні, гіфи гливи виробляють багато липких шишок з боків клітини. Вони виділяють нематоксичні речовини – хімічні речовини, які паралізують і вбивають нематод. Гриб утворює спеціалізовані гіфи, які проникають і переварюють черв'яків.

Є дві причини, за якими гриб буде робити це. По-перше, це захисний механізм, який перешкоджає нематодам харчуватися клітинами гриба. По-друге, нематоди є додатковим джерелом азоту. Гриб не потребує додаткових джерел їжі, але азот часто знаходиться в дефіциті в давно мертвому матеріалі гриба.

1.2. Харчова та лікарська цінність *Pleurotus ostreatus*

Проаналізовано дані літератури, що характеризують харчові, лікувальні та екологічні властивості гриба *Pleurotus ostreatus* (глива звичайна). Глива - повноцінний продукт харчування, що забезпечує потребу організму людини в білках, вуглеводах, жирах, вітамінах і мінеральних солях. У б'язках плодівих тіл гливи міститься 18 амінокислот, вісім з яких незамінні (ізолейцин, лейцин, лізин, метіонін, фенілаланін, триптофан, треонін, валін). Лікувальна цінність грибів характеризується вмістом водорозчинних (тіамін В₁, рибофлавін В₂, ніацин В₃, РР, піридоксин В₆, біотин В₇, аскорбінова і пантотенова кислота) і жиророзчинних (кальциферол, ергостерол, токоферол) вітамінів [20].

У грибах знайдено найбільше вітамінів групи В, особливо вітамінів В₁, В₂, і РР. Цих вітамінів виявлено більшість в грибах ніж в інших продуктах, які ми споживаємо, для прикладу, можна навести два продукта, такі як печінка та дріжджі, які є більш багатими на ці вітаміни. Також можна знайти вітамін С багатьох грибах, проте тільки 1-5%, що є достатньою добовою потребою для людини, добова норма для людини дорівнює 50-100мг. Гриби також містять і вітамін А. Він є в небагатьох грибах, у вигляді каротину в стадії напіввітаміна, який тільки після вживання і засвоєння його організмом перетворюється в активний вітамін А. Якщо зберігати гриби не вірно то вміст вітамінів може падати, та якщо правильно підходити до зберігання грибів, то всі корисні компоненти залишається відносно високими [Ошибка! Источник ссылки не найден.]

1.2.1. Поживна цінність гливи

Гриби - цінний харчовий продукт. У харчуванні людини важливу роль відіграють білки, жири, вуглеводи, різні мінеральні солі і вітаміни. Всі ці речовини містяться в грибах. За хімічним складом їстівні гриби дещо відрізняються від інших продуктів. У них відсутній рослинний крохмаль. З

групи вуглеводів в грибах міститься глікоген і цукру, які надають їм солодкуватий присмак.

Глива - «чистий» гриб, що не містить пестицидів, нітратів, солей важких металів. Вміст азоту в гливі - як у горосі, фосфору - як в рибі, тіаміну - як в капусті, біотин - в кілька разів вище, ніж у яйцях і молоці, вітамінів групи В - в 10 разів більше, ніж в інших продуктах харчування, білків і вуглеводів це - перший серед грибів.

За змістом білка і амінокислотним складом глива ближче до овочів, ніж до м'яса. Індекс незамінних амінокислот гливи перевершує індекс амінокислот овочів, горіхів, зерна і близький до індексу м'яса і молока. У разі простої дієти гливи можуть бути незамінним джерелом амінокислот для людського організму. Білок гливи містять всі незамінні амінокислоти. Ступінь засвоєння грибною білка досягає 90 %. На підставі дослідів показано, що 100-200 г грибів (по сухій масі) досить для забезпечення добового поживного балансу у людини масою 70 кг.

У наведеній нижче таблиці показано вміст амінокислот у плодових тілах гливи звичайної. Хімічний склад плодових тіл гливи звичайної представлений в наступному вигляді сирий протеїн - 32,6%, істинний білок - 22,0%, зола - 5,4%, ліпіди - 5,4%, вуглеводи - 43,9%. Головною складовою частиною золи плодових тіл гриба є окису калію і фосфору. Фосфор входить до складу білків і бере активну участь в енергетичному балансі організму. Калій бере участь у підтримці кислотно-лужної рівноваги організму і сприяє регулюванню змісту води в клітинах.

Вміст амінокислот в плодових тілах гливи звичайної:

- лізин $1,37 \pm 0,2$
- аргінін $1,17 \pm 0,2$
- валін $0,91 \pm 0,01$
- ізолейцин $0,71 \pm 0,02$

- лейцин $1,44 \pm 0,2$
- аспаргін $2,21 \pm 0,1$
- треонін $1,14 \pm 0,3$

- глутамінова кислота $2,49 \pm 0,1$

- пролін $0,85 \pm 0,02$
- тирозин $0,21 \pm 0,02$,
- фенілаланін $0,74 \pm 0,02$
- аланін $1,07 \pm 0,2$
- серин $1,33 \pm 0,2$

Останні дослідження показали, що 69-85-го % загального азоту в грибах міститься у формі перетравного білка. Вміст білкових речовин у грибах, крім видових відмінностей, залежить від таких факторів як вік і харчування.

Капелюшок гливи накопичує білка майже в 2 рази більше, ніж ніжка. У молодих і старих грибах білка менше. Крім білка, в м'якоті гливи багато інших цінних для харчування людини речовин. Це повний набір незамінних амінокислот, таких як триптофан, цистин, аспарагінова кислота, лізин, аланін, а також вітамінів В1, В2, В5, РР, Н, С та ін . За вмістом вітамінів В1 і В2 м'якоть

гливи не поступається житньому хлібу, вітаміну Н - яєць і молока. Вітаміну РР в ній стільки ж, скільки його в дріжджах печінці, а вітаміну В6 - не менше, ніж у вершковому маслі. Поряд з пов'язаними амінокислотами в плодових тілах

їстівних грибів містяться і вільні амінокислоти, які беруть участь у синтезі білка живої клітини, так і в інших ланках обміну речовин, забезпечуючи синтез нуклеїнових кислот, нуклеотидів, ферментів, вітамінів і т. д.

Гриби містять багато мінеральні речовини: калій, фосфор, сірку, магній, натрій, кальцій, хлор, і вітаміни А (каротин), вітаміни групи В, вітамін С, великі кількості вітаміну D і ряд жирних кислот, необхідних людині. Калорійність гливи - 300 ккал/кг

Вміст загального азоту в гливі звичайної становить 2,4 %, загальних білків - 15 %, заліза - 0,0015 %, фосфору - 1,35 %, калію - 3,79 % (від сухої маси).

Для характеристики живильної цінності гливи важливими є відомості про наявність у ній біологічно активних речовин різної природи. Відомо, що до складу сирого жиру входять специфічні метаболіти - стерини, пов'язані з біогенезом жирних кислот. Серед стеринів є речовини, які безпосередньо володіють біологічною активністю. Наприклад, в гливі виявлено до 12 речовин стеринової природи. У плодкових тілах і культурному міцелії в якості компонентів знайдені ергостерин, фунгестерин, деревистерин.

До складу грибів входять азотисті речовини, в тому числі білкові сполуки. Азотистих речовин у них більше, ніж у м'ясі, яйцях, гороху, жита. Білкові речовини в грибах розподілені нерівномірно. У капелюшках їх більше, ніж у ніжках. Жирів міститься від 1 до 6 %. До їх складу входять необхідні для людини компоненти: провітамін, а також деякі жирні кислоти. Всі вони добре засвоюються організмом.

Найбільшу кількість жирів міститься в плодоносному шарі капелюшки, менше їх ніжці. Гриби дуже багаті екстрактивними речовинами, що додає їм своєрідний смак і запах, а також ферменти, які сприяють кращій перетравленості і засвоюваності їжі. Як правило, аромат грибів складають складні суміші летких продуктів обміну. Грибний аромат багатьох їстівних базидіоміцетів, в тому числі гливи, становить група аліфатичних альдегідів, кетонів, спиртів, серед яких найбільш часто ідентифікують октанові похідні, а група азотовмісних сполук, що включає прості аміни, амідні, амінокислоти, похідні глютамінової кислоти та інші, створює оселедцевий відтінок цього запаху.

Їстівні гриби їли та цінували за їх смак, економічні та екологічні цінності та лікарські властивості. Вони здатні рости за різних кліматичних умов на

дешевих доступних відходах. Це є прикладом того, як малоцінні відходи, які утворюються в основному завдяки діяльності сільськогосподарської, лісової та харчової промисловості, можуть бути перетворені на корисніший людству матеріал більш високої цінності. про культуру додаткових грибів. Причини Форма грибного роду *Pleurotus* інтенсивно вивчаються та культивуються у багатьох різних куточках світу. Зокрема, *P. ostreatus*, також відомий як «гриб устриць», потребує коротшого часу зростання порівняно з іншими їстівними грибами. Також субстрати, які використовуються для його вирощування, не потребують стерилізації, лише пастеризація, яка коштує дешевше. Цей гриб вимагає небагато екологічного контролю для вирощування, і його плононі органи не часто піддаються нападам хвороб і шкідників, і його можна культивувати простим і дешевим способом. Одним з переваг вирощування устричних грибів є те, що висока частка субстрату перетворюється на плононі тіла, збільшуючи прибутковість порівняно з іншими грибами, що робить *P. ostreatus* відмінним вибором для вирощування грибів.

1.2.2. Екологічна цінність гливи

Екологічна цінність гливи звичайної полягає насамперед у можливості використання в якості субстрату відходів різних галузей промисловості і сільського господарства. При плантаційному розведенні для гливи підкодяють пні листяних (клена, дуба, бука, верби) і хвойних (ялини, сосни, кедра) порід дерев. Плантаційне розведення дає можливість забезпечити біологічне раскорчування пнів. В той же час здійснюється біологічний захист пнів та прилеглих лісових масивів, схильних до пошкодження небезпечним і поширеним збудником хвороб сосни - грибом коренева губка.

Плантаційне розведення дозволяє запобігти поразки листяних і хвойних дерев від пенькової інфекції, яка викликається опеньком осіннім цим. Присадібне розведення гливи на низькосортної деревини у вигляді брусків дає можливість прискорити процес природного деструкції та мінералізації.

Збирання грибів з плантацій дає можливість поповнювати і вдосконалювати раціон людини. З екологічної точки зору таким чином утворюються екосистеми, які регулюються зусиллями людини в обмеженому обсязі.

Актуальною проблемою сільського господарства є отримання високобілкових кормів для тварин. З цієї метою використовується субстрат після збору врожаю гливи. Цей гриб, руйнуючи в процесі росту найбільш важкоперетравлювальний тваринами целюлозу і лігнін, що сприяє збагаченню рослинних субстратів вуглеводами, амінокислотами, вітамінами, мінеральними елементами. Перетравність пшеничної соломи через 90 днів культивування на ній гливи збільшується на 10-20 % і стає аналогічною перетравності якісного сіна. Субстрат, пронизаний тільки білою грибницею гливи з приємним грибним запахом, застосовують як добавку в корм. Проведені в Інституті ботаніки ім. Н. Р. Холодного НАН України дослідження по використанню в якості кормів субстрату, що складається з осикових тирси (90 %) і пшеничної соломи (10 %), показали, що така 2,5 % добавка до добового раціону курчат підвищує приріст живої маси на 5 %. За змістом треоніна і лізину даний субстрат після плодоношення гливи перевершує кукурудзу, овес, просо, за кількістю валіну - жито, сорго, ячмінь, горох. Він був більш насичений залізом, ніж більшість зернових культур за винятком проса. Така кормова добавка збагачена вітамінами.

Велику цінність для отримання заміника кедрової деревини при виробництві олівців є деревина бука після екстенсивного культивування на ній гливи.

Дана схема показує два варіанти залучення відходів лісового, сільського господарства і переробних галузей. Перший - це природна деградація, спалювання або компостування. Наслідок - забруднення біосфери.

Другий варіант полягає у використанні відходів як субстрату для культури гливи. Він являє собою безвідхідну мікотехнологію. Паралельно з отриманням харчового продукту цінним є і відпрацьований субстрат, який може знайти застосування в вигляді мікокорма, мікодобрива або мікосубстрата для верми-мікультури.

Поживна цінність *Pleurotus ostreatus* визначається як хімічним складом компонентів, що входять до складу грибів, так і ступенем їх засвоюваності людиною. За вмістом білка і складу амінокислот гриби ближче до овочів, ніж до м'яса. За співвідношенням ненасичених і насичених жирних кислот ліпиди істивних грибів близькі до рослинних масел. Гриби містять багато мінеральні речовини і ряд жирних кислот, необхідних людині. Калорійність гливи - 300 ккал / кг. Зміст загального азоту в гливі звичайній становить 2,4%, загальних білків -15%, заліза - 0,0015%, фосфору - 1,35%, калію - 3,79% від сухої маси.

У великому ряді досліджень показано, що лікувальна цінність грибів характеризується вмістом водорозчинних і жиророзчинних вітамінів. Вслідіє глива та бактерицидною дією, сприяє виведенню з організму токсинів радіоактивних елементів. Спиртові екстракти плодівих тіл застосовуються при профілактиці гіпертонії, тромбофлебіту, атеросклерозу і деяких інших захворювань.

Особливо слід відзначити, що відпрацьований субстрат – чудова білково вітамінна добавка до кормів для великої рогатої худоби, свиней і птахів.

Додавання збагаченої білком гливи соломи в раціон харчування тварин підсилює їх імунітет до хвороб, покращує обмін речовин. Відпрацьований субстрат може використовуватися як добриво під овочеві, ягідні і плодіві культури.

1.2.3. Лікувальна цінність гливи

У плодових тілах культивованої гливи міститься безліч біологічно активних речовин, здатних попереджати та лікувати широкий спектр захворювань. Дослідження показали, що високій вміст чистого протеїну (до 47,7%) в плодових тілах гливи сприяє запобіганню та лікуванню гепатиту, виразки шлунка, знижує кількість холестерину в крові, допомагає нормалізувати тиск як у гіпертоніків, так і у гіпотоніків, надає протипухлинну дію, підвищує імунну стійкість організму.

Володіє глива та бактерицидну дію, сприяє виведенню з організму токсинів радіоактивних елементів. Спиртові екстракти плодових тіл застосовуються при профілактиці гіпертонії, тромбоемболії, атеросклерозу і деяких інших захворювань. Гриби широко застосовуються в дієтичному харчуванні для тих, хто хоче схуднути, так як вони надовго заповнюють травний тракт і забезпечують відчуття ситості. При цьому вони мають речовину, що нормалізує рівень ліпідів в крові, які, в свою чергу, сприяють зниженню кров'яного тиску і зменшення ризику серцево-судинних захворювань.

За вмістом жирів глива перевершує всі овочеві культури - 5,4 % ліпідів. Причому в значних кількостях присутні стерини, фосфатиди, ефірні масла і жирні кислоти, які не можуть синтезуватися в організмі людини і є незамінними. Ці кислоти забезпечують нормальний ріст тканин і обмін речовин, перешкоджають відкладенню холестерину.

Наступним важливим компонентом є вуглеводи (43,9 %). Основна їх частина, що входить у фракцію клітковини, нормалізує діяльність кишкової мікрофлори і сприяє виведенню з організму холестерину і різних токсичних речовин.

Містяться в цьому грибі органічні кислоти і ферменти, що сприяють розщепленню жирів та глікогену. За вмістом вітамінів глива знаходиться на рівні м'ясопродуктів, а по кількості пантотенової кислоти перевершує овочі,

фрукти, м'ясо, молоко та рибу. За змістом біотину глива - один з найбагатших цим вітаміном продуктів (8-76 мкг/100 г). За вмістом вітаміну РР, який сприяє поліпшенню кровообігу, перешкоджає виникненню тромбів в судинах і поліпшує діяльність печінки і шлунка, гливі немає рівних серед культивованих грибів. Крім перерахованих вітамінів, у плодових тілах гливи містяться вітаміни С, В2, Е.

В гливі міститься до 7-8% мінеральних речовин. Це калій, регулює роботу серцевого м'яза, фосфор, бере участь в обміні речовин і входить до складу білків і нуклеїнових кислот, залізо, яка бере участь в утворенні гемоглобіну і ряду ферментів, а також кальцій, кобальт, мідь, натрій і ряд інших елементів, необхідних людському організму.

Глива має антисклеротичну дію. Одним з достоїнств цього гриба є високий вміст полісахаридів, які відповідають за протиракову дію продукту. Глива за змістом протипухлинних активних речовин стоїть на третьому місці після опенька літнього. Ще в стародавній японській і китайській літературі говорилося, що регулярне вживання такого гриба надає сприятливу дію на людей, знижує кров'яний тиск і тонізує нервову систему. В даний час медичне застосування глив не обмежується використанням в їжу плодових тел. Широко поширене виготовлення лікувальних препаратів на їх основі. Зниження рівня ліпідів у крові, протипухлинна активність, антибактеріальні, протипаразитарні та антиалергічні властивості, відновлення функцій нервової системи - це якраз ті якості, які роблять гливу незамінним продуктом в нашому раціоні.

Отже, гриб *Pleurotus ostreatus* має багато переваг як культивований гриб: швидкий міцеліальний ріст, висока здатність до сапрофітної колонізації, прості та недорогі методи вирощування. Крім того, *P. ostreatus* містить мало калорій, жирів і холестерину, при цьому багатий білком, вуглеводами, клітковиною, вітамінами та мінералами. Крім того, споживання гливи позитивно впливає на загальне здоров'я людини через цілу низку біологічно-активних речовин

речовин. Ці харчові та профілактично-лікувальні властивості свідчать про можливість застосування гриба як корисної дієтичної добавки.

1.3. Характеристика біополімерів.

Біополімери – це природні полімери, що виробляються клітинами живих організмів. Біополімери складаються з мономерних ланок, які ковалентно зв'язані в утворенням більших молекул. Існує три основні класи біополімерів, які класифікуються відповідно до використовуваних мономерів і структури біополімеру, що утворився: полінуклеотиди, поліпептиди та полісахариди.

Полінуклеотиди, такі як РНК і ДНК, являють собою довгі полімери, що складаються з 12 або більше нуклеотидних мономерів. Поліпептиди та білки є полімерами амінокислот і деякі основні приклади включають колаген, актин та фібрин.

Біополімери мають різноманітне застосування, наприклад, у харчовій промисловості, виробництві, упаковці та біомедичній інженерії.

Біополімери – це природні полімери, які виробляються живими організмами. Вони відрізняються від синтетичних біорозкладних полімерів.

Зростає стурбованість негативним впливом забруднення навколишнього середовища викопним паливом і відходами нафтохімічних продуктів. Багато досліджень було спрямовано на вивчення інших альтернатив нафтопродуктам, які були б поновлюваними, а також біорозкладними і, таким чином, становили менший ризик для навколишнього середовища. Біополімери є одним із таких можливих рішень проблеми, оскільки вони, як правило, є біологічно розкладними матеріалами, отриманими з відновлюваної сировини. Однак слід зазначити, що не всі полімери, що піддаються біологічному розкладанню, є біополімерами (тобто виробляються з відновлюваних ресурсів). Як і можна було очікувати, існують проблеми, пов'язані з біополімерами, такі як їх обмежена швидкість виробництва, вартість виробництва та придатність їх властивостей.

Деякі з перших сучасних біоматеріалів, виготовлених з природних біополімерів, включають каучук, лінолеум, целулоїд і целофан. Останні два виготовлені з використанням целюлози, яка є найбільш поширеним біополімером у природі та найбільш поширеним органічним матеріалом на Землі, що становить третину всієї рослинної речовини. З середини 20-го століття ці штучні біополімери були практично повністю замінені матеріалами на нафтохімічній основі. Однак через зростаючі екологічні проблеми біополімери викликають новий інтерес з боку наукового співтовариства, промислового сектора і навіть політики.

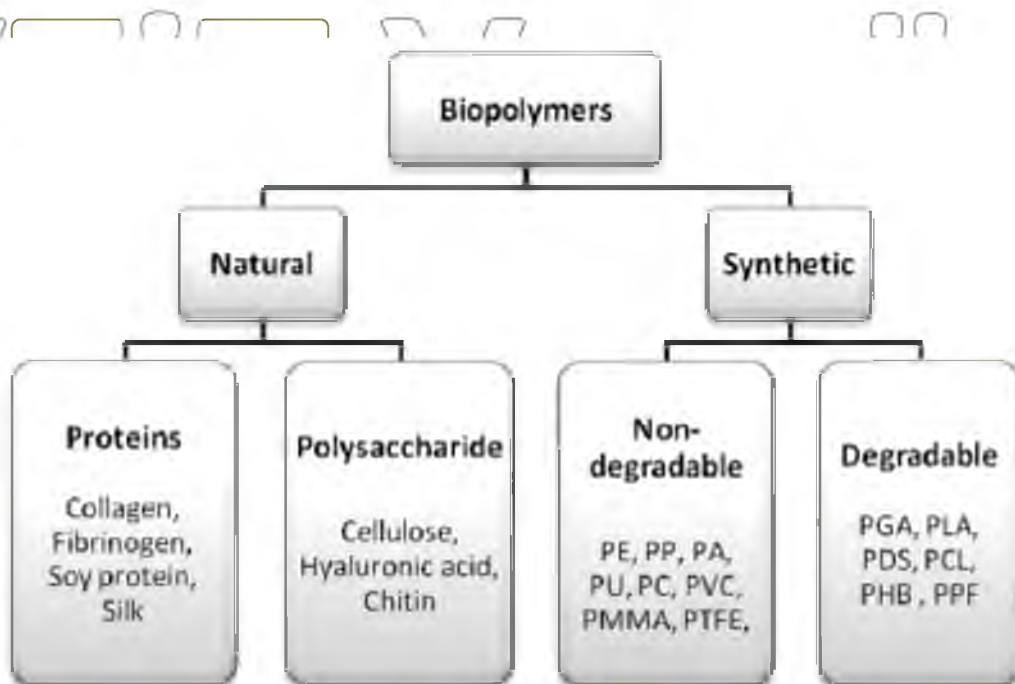


Рис.1.2 класифікація полімерів

Властивості біополімерів

Основний інтерес до біополімерів полягає в заміні багатьох предметів повсякденного користування, які виготовляються з нафтопродуктів. Це означає, що вони повинні будуть демонструвати подібні, якщо не кращі, властивості, ніж матеріали, які вони замінюють, щоб зробити їх придатними для різних застосувань, для яких вони будуть застосовуватися. Значна частина вимірювань властивостей біополімерів має дисперсію через такі фактори, як ступінь

полімеризації, тип і концентрація добавок, а також наявність армуючих матеріалів. Інформація про властивості біополімерів не така велика, як для традиційних полімерів, але все ще існує значна глибина дослідження їх фізичних, механічних, термічних властивостей.

Було визначено, що деякі біополімери володіють електронною та іонною провідністю, і тому їх назвали електроактивними біополімерами (ЕАВР). Це дало їм можливість замінити інші синтетичні матеріали. Ці біополімери, які включають крохмаль, целюлозу, хітозан і пектин, демонструють широку електропровідність від 10^{-3} до 10^{-14} См/см.

Існує багато різних методів і технік, які використовуються для виробництва біополімерів. Оскільки більшість цих полімерів вже існують у природі або виробляються природними організмами, ці процеси часто є питанням вилучення з подальшим синтезом. Вони можуть включати комбінацію з ферментації, фільтрації, компаундування/грануляції, гідролізу, етерифікації, поліконденсації, окислення та зневоднення.

Застосування біополімерів

Біополімери використовуються в багатьох промислових цілях, а також для упаковки харчових продуктів, косметики та медицини [4]. Вони можуть замінити традиційні пластмаси на основі нафти в багатьох сферах застосування. Деякі біополімери також застосовуються для конкретних цілей, для яких інші пластмаси не підходять, наприклад, для створення штучних тканин. Для цих застосувань можуть знадобитися біосумісні та біологічно розкладні матеріали з чутливістю до змін рН, а також фізико-хімічних та теплових коливань.

Біополімери, загалом, часто демонструють погані механічні властивості, хімічну стійкість і переробність порівняно з синтетичними полімерами. Щоб зробити їх більш придатними для конкретних застосувань, їх можна посилити наповнювачами, які значно покращують ці властивості. Біополімери, армовані таким чином, називаються біополімерними композитами. У таблиці нижче

наведено короткий огляд деяких поширених біополімерних композитів, їх властивостей і галузей, в яких вони вже широко використовуються.

Біополімери можна розділити на три категорії на основі їх мономерних одиниць і структури:

- Полінуклеотиди ДНК (дезоксирибонуклеїнова кислота) і РНК (рибонуклеїнова кислота)
- Полісахариди: целюлоза, хітозан, хітин та ін.
- Поліпептиди: колаген, желатин, глютен, сироватка та ін.

Біополімери також можна класифікувати за іншими критеріями, такими як їх основні матеріали (тварини, рослини чи мікроби), їх здатність до біологічного розкладання, шлях їх синтезу, їх застосування або властивості.

Приклади деяких комерційно вироблених біополімерів включають [1]:

- Полієфіри на біологічній основі, такі як полімолочна кислота (PLA), полігідроксибутират (PHB), полібутиленсукцинат (PBS), полібутиленсукцинат адипат (PBSA), політриметилентерефталат (PTT)
- Поліолефіни на біологічній основі, такі як поліетилен (Bio-PE)
- Поліаміди на біологічній основі (Bio-PA), такі як гомополіаміди (Bio-PA 6, Bio-PA 11) і сополіаміди (Bio-PA 4.10 – Bio-PA 5.10 – Bio-PA 6.10, Bio-PA 10.10)
- Поліуретани, такі як Bio-PUR
- Полісахаридні полімери, такі як полімери на основі целюлози (регенерована целюлоза, діацетат целюлози) і полімери на основі крохмалю (термопластичний крохмаль, суміші крохмалю)

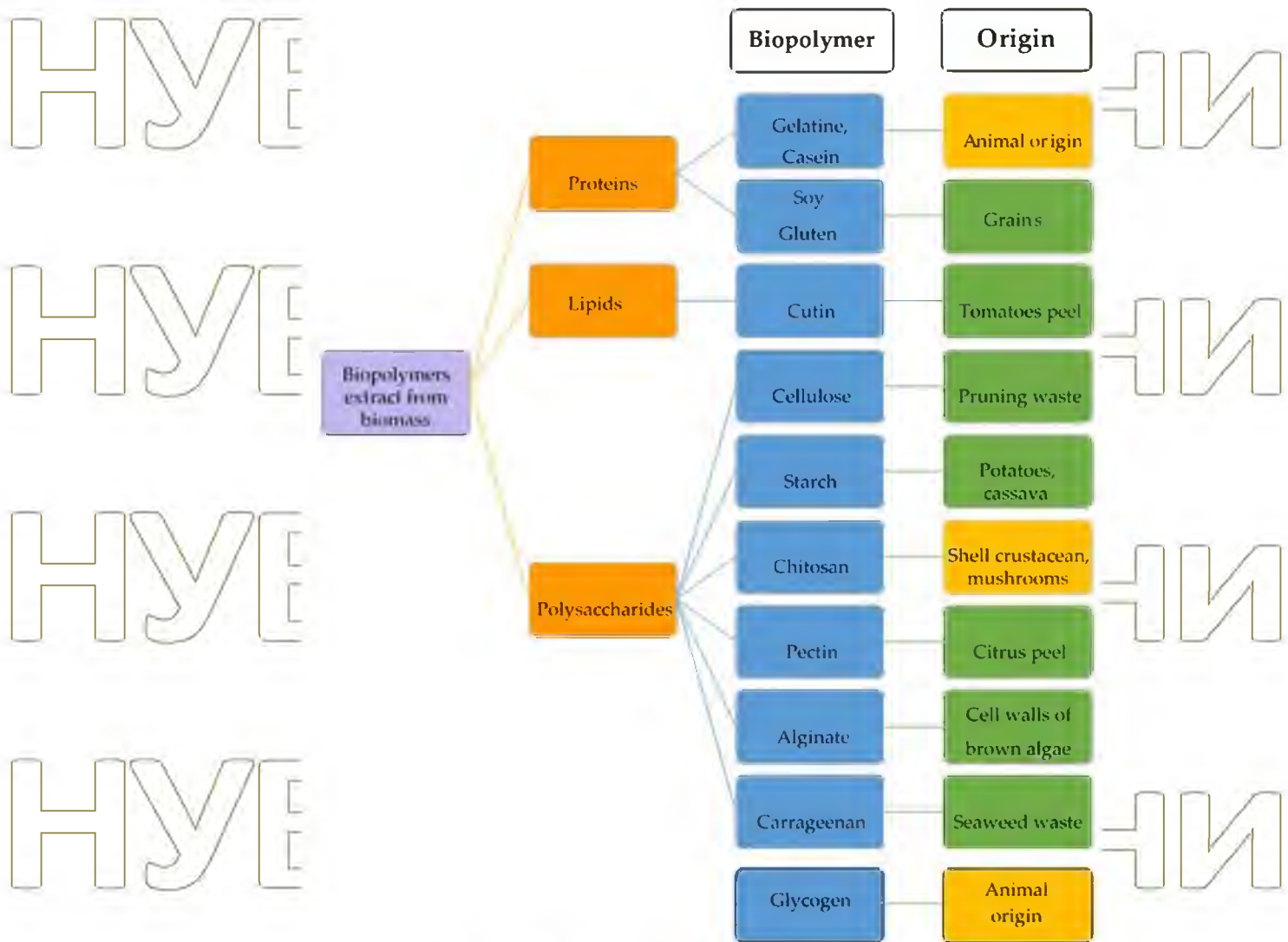


Рис. 1.3. Класифікація біополімерів

1.3.1. Полісахариди та їх властивості

Полісахариди – це лінійні або розгалужені полімерні вуглеводи, і приклади включають крохмаль, целюлозу та альгінат. Інші приклади біополімерів включають натуральний каучук (полімери ізопрену), суберин і лігнін (складні поліфенольні полімери), кутин і кутан (складні полімери довголанцюгових жирних кислот) і меланін.

Полісахариди характеризуються такими хімічними властивостями:

1. не солодкі на смак,
2. багато з яких нерозчинні у воді,
3. не утворюють кристалів при висиханні,

4. компактні та не осмотично активні всередині клітин,
5. можна екстрагувати з утворенням білого порошку та
6. загальну хімічну формулу $C_x(H_2O)_y$.

Полісахариди складаються з водню, вуглецю та кисню, як і інші форми вуглеводів. Співвідношення атомів водню до атомів кисню часто становить 2:1, тому їх також описують як гідрати вуглецю. Загальна хімічна формула полісахаридів $(C_6H_{10}O_5)_n$. Через наявність вуглецю та ковалентних зв'язків C-C і C-H вони розглядаються як органічні сполуки, подібні до інших вуглеводів.

Полісахариди відрізняються від олігосахаридів і дисахаридів залежно від кількості моносахаридних одиниць. Дисахариди складаються лише з двох моносахаридів. Олігосахариди мають більше двох моносахаридів. Термін олігосахарид зазвичай використовується для опису відносно коротших ланцюгів, ніж полісахариди. Полісахариди – це тип біологічної макромолекули, що складається з кількох моносахаридних одиниць.

Існують різноманітні форми полісахаридів. Їх структура коливається від простих лінійних до більш складних, сильно розгалужених форм. Багато з них гетерогенні. Залежно від складу вони можуть бути аморфними або нерозчинними у воді.

Класифікація полісахаридів

Полісахариди можуть бути гомополісахаридами або гетерополісахаридами залежно від їх моносахаридних компонентів. Гомополісахарид (також званий гомоглікан) складається лише з одного типу моносахаридів, тоді як гетерополісахарид (також званий гетероглікан) складається з різних типів моносахаридів.

За своїм призначенням полісахариди можна класифікувати як накопичувальні або структурні полісахариди. Зберігаючими полісахаридами називають ті, які використовуються для зберігання. Наприклад, рослини

зберігають глюкозу у вигляді крохмалю. Тварини зберігають прості цукру у вигляді глікогену. Структурні полісахариди – це вуглеводи, які виконують структурну роль. У рослин є целюлоза, яка є полімерами повторюваних одиниць глюкози, які з'єднані бета-зв'язками. Деякі тварини виробляють хітин, який є структурним компонентом, наприклад, екзоскелету.

Приклади полісахаридів

Поширеними прикладами полісахаридів є целюлоза, крохмаль, глікоген і хітин. Целюлоза – це полісахарид, що складається з лінійного ланцюга β (1→4) зв'язаних одиниць β -глюкози: $(C_6H_{10}O_5)_n$. Крохмаль – це полісахаридний вуглевод $(C_6H_{10}O_5)_n$, що складається з великої кількості моносахаридних одиниць глюкози, з'єднаних разом глікозидними зв'язками, особливо в насінні, цибулинах і бульбах. Глікоген є розгалуженим полімером глюкози, який в основному виробляється в клітинах печінки і м'язів і функціонує як вторинне довгострокове зберігання енергії в клітинах тварин. Хітин – це полімер азотовмісного полісахариду $(C_8H_{13}O_5N)_n$, який надає міцне захисне покриття або структурну підтримку в певних організмах. Утворює клітинні стінки грибів і екзоскелет комах. Іншими прикладами дисахаридів є калоза, хризоламінарин, ксилан, манан, фукоідан, галактоманнан, арабіноксилан.

Біологічне значення

Полісахариди, як і інші вуглеводи, є основним джерелом енергії, а тому є одним з основних компонентів харчування. Тварини споживають їх для отримання моносахаридів, які вони можуть використовувати для синтезу АТФ. АТФ – це хімічна енергія, біологічно синтезована за допомогою аеробного та анаеробного дихання. Глюкоза є найпоширенішою формою моносахариду, який клітина використовує для синтезу АТФ за допомогою фосфорилування на рівні субстрату (гліколіз) та/або окисного фосфорилування (з участю окислювально-відновних реакцій / хеміосмосу). А одним із джерел глюкози є вуглеводозна дієта. Занадто багато вуглеводів у раціоні може призвести до проблем зі

здоров'ям. Постійно високий рівень цукру в крові може в кінцевому підсумку призвести до цукрового діабету. Кишечникові також доведеться докладати більше зусиль, щоб їх перетравити. Занадто багато фруктози, наприклад може призвести до порушення всмоктування в тонкому кишечнику. Коли це відбувається, неабсорбована фруктоза, що транспортується в товстий кишечник, може використовуватися для ферментації флорою товстої кишки. Це може призвести до шлунково-кишкового болю, діареї, метеоризму або здуття живота.

Рослини зберігають надлишок глюкози у вигляді крохмалю. Так, є рослини, які збирають для використання крохмалю для приготування їжі та промислових цілей. Тварини зберігають вуглеводи у формі глікогену, тому, коли організм потребує більшої кількості глюкози, глюкоза може бути отримана з цього запасу за допомогою процесу глікогенолізу. Полісахариди також необхідні для живих організмів, оскільки вони служать структурним компонентом біологічних структур, таких як целюлоза та хітин. Рослини целюлозу збирають для різноманітного використання в промисловості.

1.3.2. Будова та джерело хітину

Хітин за структурою подібний до целюлози, за винятком того, що C_2 -гідроксильна група целюлози замінена ацетамідною групою. Якщо цю групу деацетилувати, полімер стає хітозаном. Первинні амінні групи в хітозані можуть бути протоновані до катіонів у розведеної кислоти; таким чином, він більш розчинний, ніж хітин, і може надавати антибактеріальні властивості при використанні у формі гідрогелю, ^{73,74} (2) хелатувати іони важких металів і барвники в стічних водах ефективніше, ніж хітин, ⁷⁵⁻⁷⁷ і (3) з ним маніпулювати легше, ніж хітин, для додаткової функціональності.⁷⁸ З огляду на ці фактори, не дивно, що більше досліджень було проведено щодо хітозану, ніж над хітином. Тим не менш, сприйнятливість хітозану до розведеної кислоти,

робить його непридатним для застосувань, що вимагають міцності, таких як міцні плівки або композити.

Основна біологічна функція хітину ракоподібного та хітину гриба - це забезпечення структурної підтримки екзоскелета тварин або клітинної стінки гриба. Однак ця функція виконується по-різному через їх різноманітних фізіохімічних середовищ. Хітин молосків зазвичай зв'язується зі склеротизованими білками та мінералами, тоді як хітин грибів асоціюється з іншими полісахаридами, такими як глюкан та маннан.

1.3.3 Грибковий хітин у біомедичному застосуванні

Грибковий матеріал використовувався у всьому світі для медичних застосувань з найдавніших часів, де він використовувався як кровоспинний засіб для зупинки кровотечі та як сирій попередник сучасних антибіотиків для лікування інфекцій. Однак справжні медичні засоби не розпочалися лише в 1970-х роках, досліджували матеріали, вироблені з грибів. Прудден активно працював над порошкоподібним грибковим міцелієм як місцевим агентом для прискорення загоєння ран і виявив, що як необроблений, так і оброблений NaOH або HCl міцелій покращує міцність на розрив пошкодженої шкіри, результат, який можна відтворити за допомогою хітину ракоподібних. до проліферації фібробластів та кератиноцитів, які важливі для створення нового базового шару шкіри, та активності матриксних металопротеїназ (ММП) (клітин людини). У 1997 році дослідницька група з Тайваню вилучила суміш хітин-полісахарид із цвіту *Ganoderma*, що містить β -1,3-глюкан (~60%) і N-ацетилглюкозамін (~40%), який був використаний для створення тканого замітника шкіри під назвою сахахітин. Ця нова пов'язка для ран була випробувана на щурах і на морських свинках перед тим, як була випробувана в попередньому клінічному дослідженні на двох пацієнтів з хронічними ранами в 2005 році. Дослідження на тваринах показали, що сахахітин значно покращив загоєння ран порівняно з марлею і мав порівнянну ефективність з бесхітином, а

комерційно доступна пов'язка для ран з хітину ракоподібних розроблена в 1988 році. Покращення загоєння також спостерігалося під час випробувань на людях. Однак сплеск інтересу до більш перспективних лікувальних властивостей хітозану у 1980 -х роках та його потенціал у системах доставки лікарських засобів призвели до розмаху досліджень, що призвело до дефіциту подальшої літератури щодо використання хітину гриба для виробництва медичних матеріалів. Читачі зацікавлених у лікувальних властивостях хітозану, а системи доставки лікарських засобів спрямовані на комплексні огляди з цих питань.

1.3.4 Хітиново-глюканний комплекс

Хітин-глюкановий комплекс (ХГК) є нерозчинним у лугах біополімером . Його молекулярна структура складається з (1 → 4)-2-ацетамідо-2-деокси-β-d-глюкану (ацетицьована одиниця) / (1 → 4)-2-аміно-2-деокси-β-d-глюкану (деацетицьована одиниці) та (1 → 3) (1 → 6)-β-d-глюкан . ХГК є основним органічним інгредієнтом у внутрішньому шарі клітинної стінки. Багато досліджень показали, що хітиновий полімер може бути використаний у кількох галузях, таких як очищення води, фармацевтична продукція, сільське господарство та харчування, тканинної інженерії та в текстилі. Наразі виробництво хітину із застосуванням жорстких хімічних обробок із панцирів ракоподібних є провідним комерційним джерелом .

Однак вегетаріанці та особи з підвищеною чутливістю до комерційного хітину уникають панцирів ракоподібних як джерела хітину. Гриби останнім часом вважаються основним джерелом продуктів ХГК зі стабільними властивостями для запобігання будь-якому ризику алергії на ракоподібних крім того, продаж ізольованого ХГК з *Aspergillus niger* схвалено як харчова добавка. Крім того, гриби є важливим джерелом біоактивного (1 → 3) (1 → 6)-β-D-глюкану , який можна використовувати як потужний протизапальний та знеболюючий засіб. Цей β-глюкан є насамперед імуномодулюючий засіб, що

стимулює імунну відповідь. Крім того, в кількох дослідженнях було припущено, що ChC є набагато більш вигідним у застосуванні адсорбції, ніж комерційний хітин, і більш корисним, ніж β -глюкани, для зміцнення імунної системи проти бактеріальної інфекції. Останніми роками *P. ostreatus* почали культивувати в комерційних цілях через менший період виробництва порівняно з іншими їстівними грибами (*A. bisporus*, shiitake, *Hericium erinaceus* і *Ganoderma lucidum*); крім того, значну частину компосту (специфічні сільськогосподарські відходи) можна перетворити на плодове тіла за допомогою простих процедур і недорогої технології. Крім того, вихід хітинового полімеру з найбільш поширених культивованих видів грибів був таким: *A. bisporus* 7%, *G. lucidum* 14%, *H. erinaceus* 16,3% та 25,08–36,72% для шиітаке. З іншого боку, опубліковано багато дослідницьких робіт щодо хімічного складу та харчової цінності гриба *P. ostreatus*. С. Булам визначив вміст β -глюканів у капелюшці (27,4–39,2%) та в плодоніжці (35,5–50,0%) за допомогою ферментних наборів Megazyme шляхом гідролізу сирих плодових тіл. З іншого боку, Чжоу виявив, що вміст хітину в ніжці та капелюшці був стабільним (3–6%) за допомогою хімічного гідролізу (10М HCl протягом 1 год при 100°C). Після видалення HCl вміст 2-аміно-2-дезоксид-D-глюкану ідентифікували за допомогою системи вискоєфективної аніонообмінної хроматографії з імпульсним амперометричним виявленням (HPAEC-PAD) з колонкою Dionex CarboPac PA20. Однак Черно повідомляє, що вміст хітину, включаючи полісахариди, становив 27 % у ніжці та 25 % у капелюшці; виходи визначали як глюкозамін після деполімеризації.

1.3.5 Меланін

Меланіни - це загадкові пігменти, які виробляються різними мікроорганізмами, включаючи кілька видів бактерій і грибів. Вже більше 40 років відомо, що гриби виробляють пігменти, які називаються меланіни. Продукція грибами пігменту меланіну інтенсивно не вивчалася. Це дослідження було проведено з виділення та характеристики меланіну з

їстівного гриба *Pleurotus cystidiosus* var. *formosensis*. Гриб утворив темну слизову масу гіалінових артроспор на міцелії. Коремія виробляла виключно дикаріотичні артроспори із залишком затискного з'єднання. Безперервне розширення і поділ клітин у ніжці коремію забезпечило клітини для артроконідації на верхівці коремію, яка оточена крапелькою рідини (коремієва рідина). Коремі (конідії) чорного кольору були отримані *Antromycopsis macrocarpa* (анаморфа *P. cystidiosus*) при культивуванні на картопляному декстрозному агаровому середовищі. Пластинку з агаром інкубували при безперервному освітленні для отримання високої кількості пігменту (коремія). Слизистий шар коремі екстрагували та частково очищали лужною та кислотною обробкою. Чорний пігмент був підтверджений як меланін на основі УФ-, ІЧ- та ЕПР-спектрів, крім хімічного аналізу.

Меланіни — це загадкові пігменти, які виробляються різноманітними мікроорганізмами, включаючи кілька видів бактерій і грибів. Вже більше 40 років відомо, що гриби виробляють пігменти, звані меланіни. Продукція пігменту меланіну грибами інтенсивно не вивчалася. Це дослідження було проведено з виділення та характеристики меланіну з їстівного гриба *Pleurotus cystidiosus* var. *formosensis*. Гриб утворював темну слизову масу гіалінових артроспор на міцелії. Коремія винятково утворювала дикаріотичні артроспори із залишком затискного з'єднання. Безперервне розширення і поділ клітин у ніжці коремію забезпечило клітини для артроконідації на верхівці коремію, яка оточена крапелькою рідини (коремієва рідина). Чорне забарвлене ядро (конідії) було отримано *Antromycopsis macrocarpa* (анаморфа *P. cystidiosus*) при культивуванні на картопляному агаровому середовищі. Пластинку з агаром інкубували при безперервному освітленні для отримання великої кількості пігменту (коремія). Слизистий шар коремі був витягнутий і частково очищений лужною та кислотною обробкою. Чорний пігмент був підтверджений як меланін на основі УФ-, ІЧ- та ЕПР-спектрів, крім хімічного аналізу.

Меланін – звичайна речовина, що виробляється тваринами, рослинами та мікроорганізмами. Меланіни є пігментом високої молекулярної маси, що утворюється в результаті окисної полімеризації фенольних або індольних сполук і зазвичай темно-коричневі або чорні (Langfelder et al. 2003; Casadevall et al. 2000; Jacobson 2000). Меланіни є одними з найбільш стабільних, нерозчинних і стійких з біохімічних матеріалів, вони підвищують виживання і конкурентоспроможність організмів у певних середовищах, але не є суттєвими для росту і розвитку (Белл і Уїлер 1986). Було показано, що він захищає мікроорганізми від ультрафіолетового випромінювання, ферментативного лізису, окисників і знищення альвеолярними. Також було показано, що він хелатує іони металів, функціонує як фізіологічний окислювально-відновний буфер, забезпечуючи структурну жорсткість клітинним етикам і допомагаючи зберігати воду та йони. Меланін також може грати роль у захисті від протимікробних препаратів. Здатність деяких мікробів виробляти меланін пов'язується з вірулентністю та патогенністю їх відповідних видів тварин або рослин. У фактичному синтезі меланіну попередники дифенولي дестабілізуються шляхом ферментативного окислення до хінінів, де після продукти окислення спонтанно полімеризуються з утворенням меланіну. Більшість аскоміцетів і дейтеромицетів синтезують меланін типу 1,8-дигідроксинафталіну (DHN). Деякі базидіоміцети синтезують L-дигідроксифенілаланін (ДОФА) або глутамініл-1-3,4дигідроксибензол (GDHB) меланін. Грибкові меланіни надають грибам певні переваги, такі як збільшення їхнього потенціалу виживання в деяких середовищах і підвищення їх вірулентності. Хоча пігменти меланіну патогенних грибів рослин, патогенних для людини грибів і сапрофітних грибів були досліджені, література, що стосується пігменту неїстівних грибів, гриб роду *Pleurotus* (Jacq.Fr.)P. Кумми утворюють гетерогенну групу їстівних видів високого комерційного значення. *Pleurotus cystidiosus* продукує артроконідії з темним пігментом, утворюючи чорний пігмент на міцелії або базидіомах. Повідомляється, що два інших види *Pleurotus*, такі як *P. australis* і *P. purpureolivaceus* викликають артроконідії.

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

2.1. Місце проведення досліджень

Н

Робота була виконана на базі лабораторії екстракції рослинної сировини та біоконверсії Державної установи «Інститут харчової біотехнології та геноміки Національної академії наук», а також на базі кафедри фізіології, біохімії рослин та біоенергетики під керівництвом доктора біологічних наук, доцента – Бойко Ольги Анатоліївни.

Н

Співробітники лабораторії процесів екстракції рослинної сировини та біоконверсії: завідувач лабораторії - кандидат технічних наук- Барштейн Віктор Юрійович та саме під наглядом наукового співробітника кандидата біологічних наук Круподьорової Тетяни Анатоліївни проводилися всі лабораторні роботи. Державна установа „Інститут харчової біотехнології та геноміки НАН України” була створена в результаті з’єднання та згодом перейменування Інституту харчової хімії та технології НАН України та передання до установи Відділу геноміки та біотехнології Інституту клітинної біології та генетичної інженерії НАН України (Постановка Президії НАН України від 02.07.2008 р. №194).



Н

Рис. 2.1. Вивіска Державної установи Інституту харчової біотехнології та геноміки.

2.2. Матеріали та методи дослідження

У роботі наведено характеристику хімічного складу та функціонально-фізіологічних властивостей препаратів біополімерного комплексу гливи звичайної (*Pleurotus ostreatus*), що вирощується в контрольованих умовах.

Біополімерні комплекси отримували шляхом послідовної обробки сировини гарячою водою, кислотним і лужним агентами. При цьому варіювали концентрацію і тривалість дії на сировину розчину гідроксиду натрію.



Рис 2.4 *Pleurotus ostreatus* штамп 551

Біополімерні комплекси отримували шляхом послідовної обробки сировини гарячою водою і 3,7 % розчином HCl при кімнатній температурі та

розчинами 3,0 або 7,0 % NaOH при температурі 98 °С, варіюючи тривалість лужної обробки [17].

Грибний біополімер, що містить глюкановий комплекси отримано за послідовна обробка сировини гарячою водою і 3,7% розчину соляної кислоти (HCl) при кімнатній температура. Твердий залишок обробляли 3,0 та 7,0% розчин гідроксиду натрію (NaOH) при 98°С, час обробки 1,5 та 4,5 год.

Метод, описаний у (Whister et al., 1965) був використаний для отримання дріжджового β-глюкану. До дріжджів додавали 6% розчин NaOH (вологість 72%) і суміш нагрівали до 60°С. Потім його розбавляють водою і твердою речовиною фазу відокремлювали, обробляли 3% розчином NaOH протягом 3 годин і розбавляють водою. Твердий залишок відокремлювали, суспендували у воді, суміш одержували нагрівають до 80°С, підкислюють до рН=4,5. Залишок обробляли 3% розчином NaOH при 80°С протягом 2 годин. Тверду фазу відокремлюють, суспендують водою; рН суміші доводили до 4,5. Залишок відокремлювали і обробляли 3% оцтовою кислотою кислота (CH₃COOH) розчин при 75°С. Після охолодження желатинову масу відокремлюють від надосадової рідини, промивають, гомогенізують в 0,16% CH₃. Розчин COONa і автоклавують при 135°С протягом 1 години. Після охолодження, реакційну суміш розбавляли водою, тверда речовина фаза була відокремлена. Потім його знову призуниняли у воді та автоклавують при 135°С. Тверду фазу - β-глюкан промивали водою, етанолом та ефіром [19].

Зразки гідролізували розчинами мінеральні кислоти (Whister et al., 1965). Ідентифікація моносахаридів гідролізатів за допомогою хроматографа. Вміст глюкозаміну оцінювали з 3-метил-2-бензотіазолонгідразон-гідрохлоридом. Розраховували рівень меланіну з калібрувальної кривої на основі фотометрії розчину. Довжина хвилі 490 нм. Для цього використовували меланін. Проведено аналіз вмісту загального азоту за методом Кьельдаля (Manzi et al., 1999). Рівень азотного хітину отримували шляхом розмноження вмісту хітина за коефіцієнтом 0,069 (природного хітину міститься 6,9% N). Загальний вміст

білкового азоту розраховується як різниця між загальним азотом рівень і значення азоту хітину. Загальний вміст білка розраховували шляхом множення білкового азоту вміст на 6.25 (Manzi et al., 1999).



Рис. 2.5 Інокульовані колби після термостаті з міцелієм гриба

Грибний полімер, що містить меланін вирощували на КПК в чашках Петрі при $25 \pm 1^\circ\text{C}$ при безперервному освітленні світлом інтенсивністю 400 люкс протягом 3 тижнів. Чорно забарвлену масу гіалінових артроспор, яка виділяється з міцелію, промивають 1 М NaOH і автоклавують при 120°C протягом 20 хв. Пігментований зразок NaOH центрифугували при 5000 g протягом 5 хв і відбирали супернатант. Екстракт лужного пігменту підкислювали до рН 2 концентрованою HCl для осадження меланіну. Осад промивали 3 рази дистильованою водою і сушили протягом ночі при 20°C у модифікованій атмосфері (Gadd 1982) і використовували для подальших досліджень [34].



Рис. 2.6 Вирощена маса гриба

У виділених продуктах загальний вміст полісахаридів визначали за концентрацією редукуючих речовин, що утворилися при гідролізі зразків розчинами мінеральних кислот, хітину – методом Елсона Моргана. Ступінь ацетилювання останнього визначали кондуктометричним методом [17].

Моносахаридний склад гідролізатів полісахаридів аналізували на хроматографі Hewlett Packard 5890. Ступінь ацетилювання останнього визначали кондуктометричним методом. Моносахаридний склад гідролізатів

полісахаридів аналізували на хроматографі Hewlett Packard 5890. Нітроген білка розраховували як різницю між загальним нітрогеном, визначеним за методом Кьельдаля, і нітрогеном хітину. Масову частку меланінів контролювали спектрофотометричним методом [19].

Встановлено, що у складі виділених препаратів домінують вуглеводи, представлені глюканом і хітином в різних співвідношеннях. Супутніми до полісахаридів є біяск і меланіни, масова частка яких різна. В ІЧ-спектрах всіх зразків ідентифіковано характерні для хітину β -(1 \rightarrow 3)-глюкану і меланінів смуги поглинання. Встановлено, що біополімерні комплекси проявляють

ентеросорбційні, антиоксидантні, антацидні властивості. Регулювання ступеню прояву зазначених властивостей можливо за допомогою варіювання співвідношення бісполімерних складових комплексу [34].

Для визначення рН-стабільності зразків їх інкубували в розчинах із різним значенням рН (2,0–9,0) протягом 0–360 хв, з наступним доведенням рН розчину до 7,0 і визначенням їхньої антиліполітичної активності. Термостабільність продуктів оцінювали шляхом їхнього інкубування при температурах $(20 \pm 2)^\circ\text{C}$, $(37 \pm 2)^\circ\text{C}$, $(65 \pm 2)^\circ\text{C}$ протягом 0–360 хв, з наступним доведенням температури до $(37 \pm 2)^\circ\text{C}$ і визначенням антиліполітичної активності. Для моделювання поведінки іммобілізованого препарату в шлунково-кишковому тракті низку зразків послідовно інкубували в середовищі шлункового соку (180 хв) і натуральної жовчі (180 хв) при температурі $(37 \pm 2)^\circ\text{C}$. Кожні 60 хв відбирали один зразок, доводили рН розчину до 7,0 і визначали ступінь збереження антиліполітичної активності. Водоутрумуючу (ВУЗ) та жирозв'язучу (ЖЗЗ) здатності дієтичної добавки визначали за сорбцію існів свинцю за , сорбцію холевої кислоти за , сорбцію фенолу за, антиоксидантну активність – за, ростостимулюючий ефект щодо лактобактерій і біфідобактерій. Якісний та кількісний склад мікробіоти оцінювали шляхом визначення кількості бактерій групи кишкових паличок (коліформних бактерій), що визначали за ГОСТ 30518–97, кількості мезофільних аеробних і факультативно-анаеробних мікроорганізмів (КМАФАнМ) – за ДСТУ IDF 100В:2003[38].

РОЗДІЛ 3. РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ

В експериментах було використано штами *P. ostreatus* різного географічного походження. Вивчено їх ріст і розвиток міцелію під дією різних стимуляторів росту та виявлено їх штамоспецифічні особливості.

Метою даної роботи було виділення препаратів біополімерного комплексу гливи звичайної та характеристика їхнього складу і властивостей.

Результати аналізу хімічного складу отриманих зразків надано в таблиці

3.1.

Таблиця 3.1

Біополімерний склад зразків, $n=3$; $p \geq 0,95$

Номер зразка	Умови отримання		Вміст компонентів, %			
	Концентрація розчину NaOH, %	Тривалість експозиції, хв	Глюкан	Хітин	Білок	Меланін
1	3	90	81,3±3,3	7,5±0,3	3,5±0,1	2,5±0,1
2		120	80,9±3,2	7,7±0,3	3,4±0,1	2,6±0,1
3		180	80,1±3,2	7,9±0,3	3,6±0,1	2,9±0,1
4		240	79,3±3,2	8,0±0,3	3,2±0,1	3,0±0,1
5		270	78,6±3,1	8,1±0,3	3,0±0,1	3,4±0,1
6	7	90	73,9±3,0	10,0±0,4	3,8±0,2	7,9±0,3
7		120	71,3±2,9	10,3±0,4	3,7±0,1	8,5±0,3
8		180	69,6±2,8	11,8±0,5	3,0±0,1	9,4±0,4
9		240	67,2±2,7	12,4±0,5	3,4±0,1	10,1±0,4
10		270	66,4±2,7	12,7±0,5	3,2±0,1	10,3±0,4

Встановлено, що домінуючим компонентом отриманих препаратів, є полісахариди. Збільшення концентрації розчину лужного агента та часу його контакту з сировиною сприяє зниженню сумарної масової частки вуглеводів у

зразках. У складі гідролізатів полісахаридів ідентифіковано глюкозу і глюкозамін – моносахарид, який є структурною ланкою амінополісахаридів. Отже, вуглеводну компоненту зразків представлено двома полімерами: глюканом і хітином. Масова частка останнього значно зростає при використанні більш концентрованого розчину лугу при одночасному зменшенні вмісту глюкану. Ступінь ацетилювання амінополісахариду в складі зразків №№ 1-5 становить 76,5 – 73,8 %, а №№ 6-10 знаходиться в діапазоні 46,7 – 38,3 % відповідно. Згідно значенням цього показника в препаратах №№ 1-5 амінополісахарид слід вважати хітином, а в №№ 6-10 – хітозаном[40].

Супутніми вуглеводним компонентами є полімерні фенольні сполуки – меланіни, а також білок. Масова частка останнього в складі отриманих препаратів практично не змінюється при варіюванні умов обробки сировини, а кількість меланінів істотно збільшується з ростом концентрації лугу та тривалості експозиції

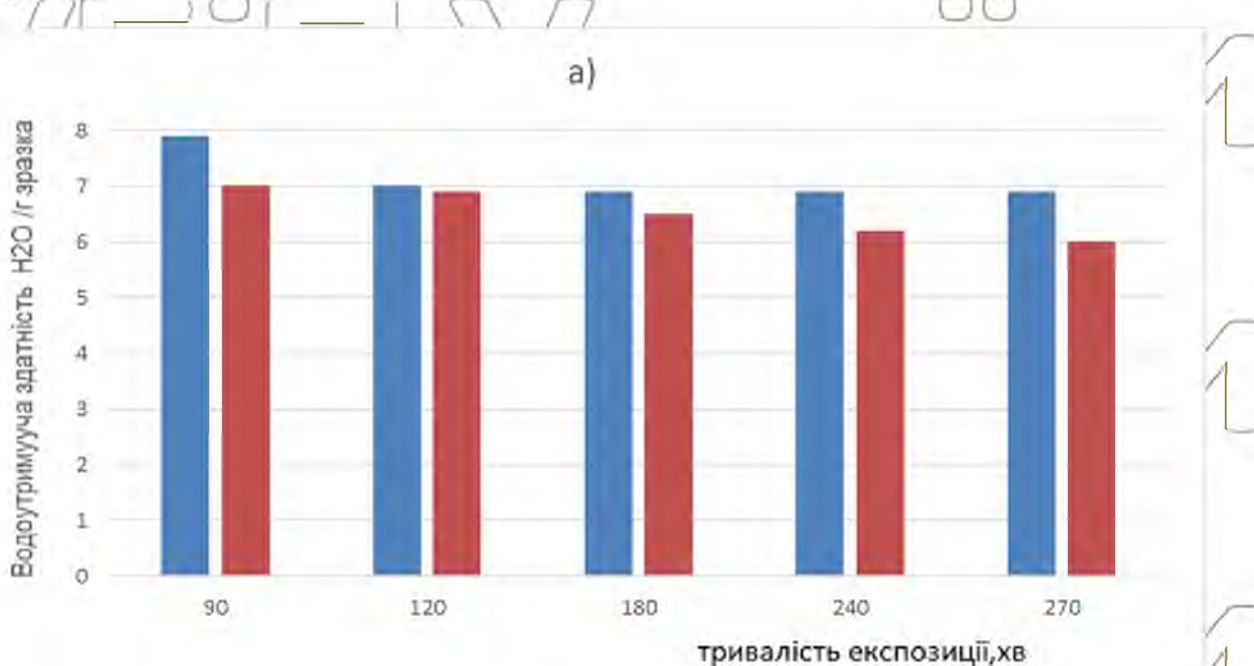


Рис 3.1. Водоутримуюча здатність зразка

Найважливішою проблемою, пов'язаною з вилученням хітин-глюканового комплексу, є уникнення деградації хітину (часткове деацетилювання) та солюбілізації β -глюканів під час етапу депротейнізації.

Концентрацію гідроксиду натрію змінювали для видалення білків, ліпідів та пігментів. Для отримання чистого ХГК було випробувано два методи, в обох методах біомасу піддавали різним лужним умовам (NaOH 0,5 М або 1М) при 80 °С, протягом період (1 год або 2 год). Нерозчинний у лугах матеріал (AIM)

піддавали послідовному очищенню деіонізованою водою до отримання нейтрального рН. Крім того, були проведені додаткові етапи обробки у першому способі сировину зміщували з киплячою водою, щоб видалити полісахариди з низькою молекулярною масою та зробити депротейнізацію більш ефективною [40].

У другому способі сітова кислота реагувала з порошком AIM для поділу вільного хітозану та розчинного білка; демінералізація є неминучим результатом виділення хітозану, оскільки *P. ostreatus* містить невелику кількість мінералів. Результати показали вплив концентрації NaOH і послідовних ванн на процес депротейнізації. Виходить ChGCFm та ChGCSm у сухій масі стебла *P. ostreatus* (49% та 41,1% відповідно) були вищими, ніж у частинах тіла капелюшки (27% та 21,05% відповідно). З іншого боку, вихід стебла у ЧГКФм (49%) вищий, ніж у ЧГКСм (41,1%); що вказує на присутність білків та мінералів у ChGCFm (підтверджено аналізами DTG, DSC та EDS). На етапі депротейнізації другого методу нерозчинні в лугах полісахариди були виділені з масовим виходом 57,77% (мас./мас.) З іншого боку, масовий вихід лугорозчинного матеріалу, отриманого на стадії депротейнізації, становив 42,23% (мас./мас.). Ці значення вказують на видалення більшості розчинних у лугах домішок, що підтверджується методом К'ельдаля та Біуретовим тестом[19].

В ІЧ-спектрах зразків ідентифіковано характерні для хітину смуги поглинання: 3265, 3105, 1635 – 1665 (амід I), 1550 – 1575 (амід II) і 953 см⁻¹. Зразок, отриманий при мінімальній за тривалістю дії на сировину розведеного розчину гідроксиду натрію, менш інтенсивно поглинає в даних областях, ніж препарат, виділений при використанні концентрованого розчину луку протягом

тривалого часу. Це вказує на більший вміст хітину у складі останнього, що узгоджується з даними хімічного складу комплексів. Наявність смуги поглинання при 1655 см^{-1} свідчить про те, що хітин знаходиться в α -формі.

Присутність в ІЧ-спектрах зразків смуги поглинання при 890 см^{-1} (при одночасній відсутності смуги поглинання при 830 см^{-1} , яка відповідає α конфігурації глікозидного зв'язку) підтверджує, що в молекулах обох полісахаридів – як хітину, так і глюкану залишки моносахаридів з'єднуються β -зв'язком. В ІЧ-спектрі виявлено характерні для β -(1 \rightarrow 3)-глюкану смуги поглинання при 2920 , 1370 , 1230 і 1200 см^{-1} [8]. На підставі цих даних можна припустити, що у складі біополімерних комплексів присутній β -(1 \rightarrow 3)-глюкан. В ІЧ-спектрах знайдені типові для меланінів смуги поглинання в області 1610 – 1590 см^{-1} , які відповідають коливанню кільця ароматичних сполук, і близько 1400 см^{-1} , обумовлені присутністю карбонільної групи хінонів.

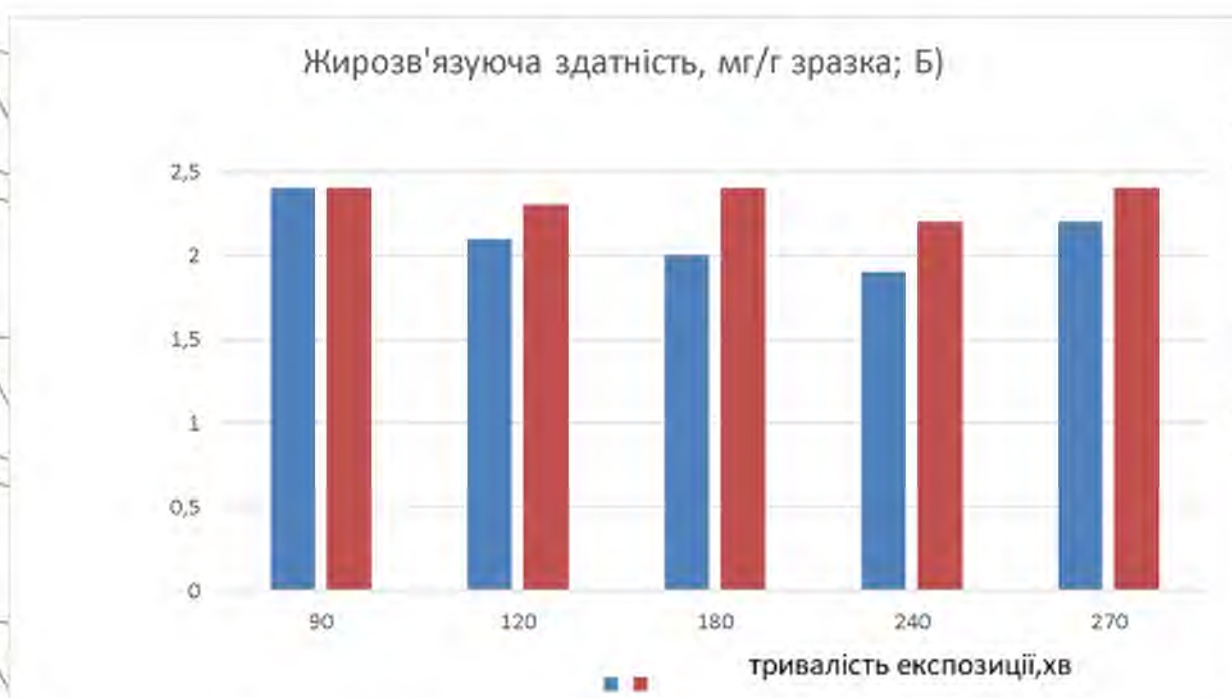


Рис. 3.2. Жирозв'язуюча здатність зразка

Встановлено, що отримані препарати стабільні в умовах, які моделюють рідкі середовища шлунково-кишкового тракту людини. Таким чином, результати первинної характеристики отриманих зразків дозволяють віднести їх до категорії харчових волокон. Для прогнозування ефективності

використання виділених продуктів як функціональних інгредієнтів та компонентів дієтичних добавок необхідно вивчити їхні функціонально-фізіологічні властивості. Як свідчать дані, представлені в рис. 3, максимальними значеннями ВУЗ характеризуються зразки, отримані при використанні слабких розчинів лугу. При цьому тривалість обробки практично не впливає на її рівень. За цим показником досліджувані комплекси співставні з харчовими волокнами водоростей і зернових, але поступаються дріжджовому глюкану. За здатністю поглинати жир отримані препарати не відрізняються від харчових волокон деяких овочів.

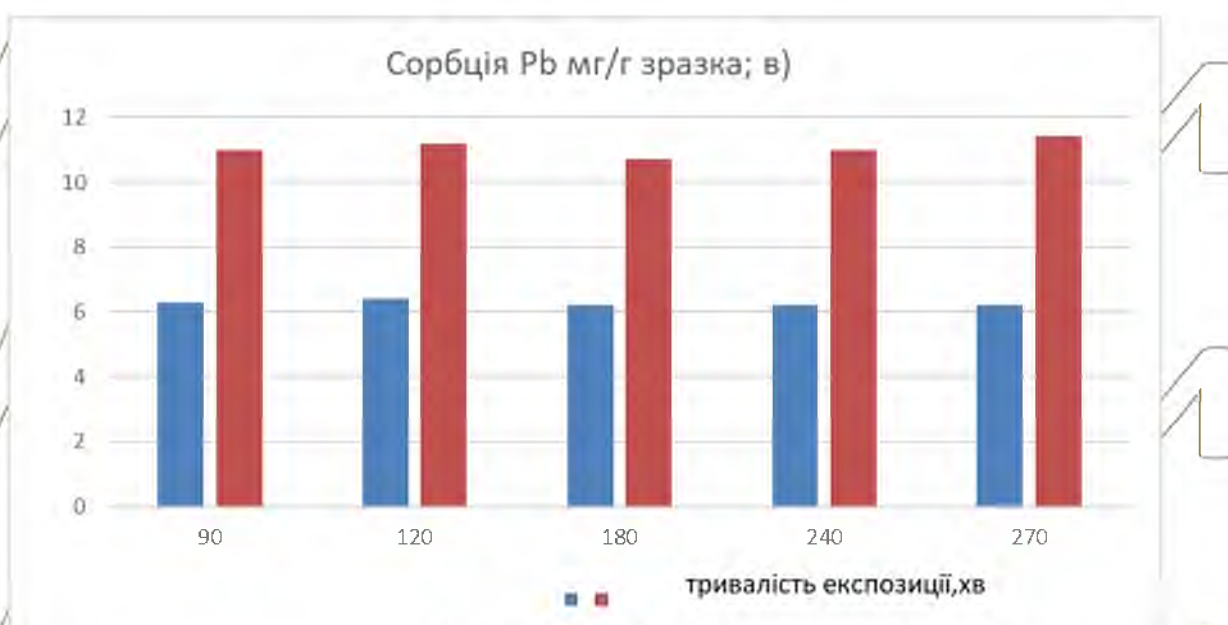


Рис. 3.3. Сорбція зразка

Зі збільшенням масової частки гідроксиду натрію в розчині зростає сорбційна активність зразків по відношенню до іонів свинцю та холевої кислоти (рис. 1в та 1г відповідно).

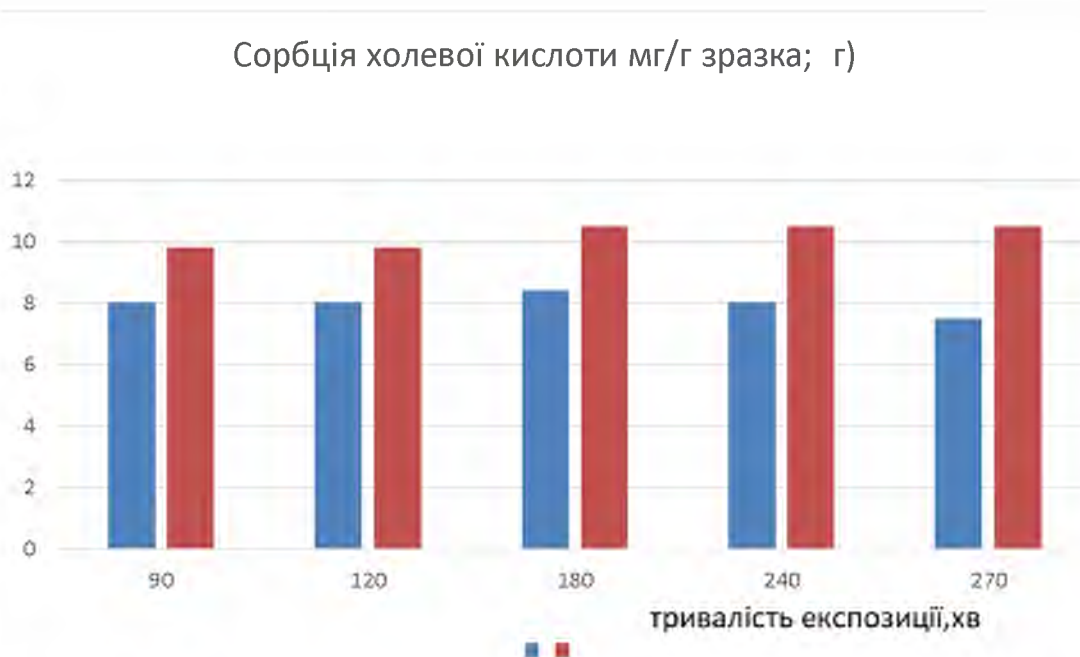


Рис. 3.4. Сорбція холевої кислоти мг/г

Проте тривалість експозиції суттєво впливає лише на здатність зв'язувати іони двовалентних металів, а у випадку сорбції холевої кислоти, при обробці сировини концентрованим розчином лугу. Щодо величини сорбційної ємності зразків по відношенню до фенолу, то спостерігається пряма кореляція між вмістом амінополісахариду в їхньому складі та ступенем його ацетилювання. Найбільш активним сорбентами сполук ароматичної природи є продукти, отримані при тривалій обробці сировини концентрованим розчином лугу. За цим показником виділені препарати не поступаються харчовим волокнам пшеничних висівок, що, ймовірно, обумовлено високим вмістом у їхньому складі таких гідрофобних речовин як меланіни і білок. Таким чином, виділені біополімерні комплекси характеризуються високою сорбційною активністю по відношенню до ряду речовин. За цими показниками вони не поступаються відомим ентеросорбентам, а в деяких випадках і перевершують їх.

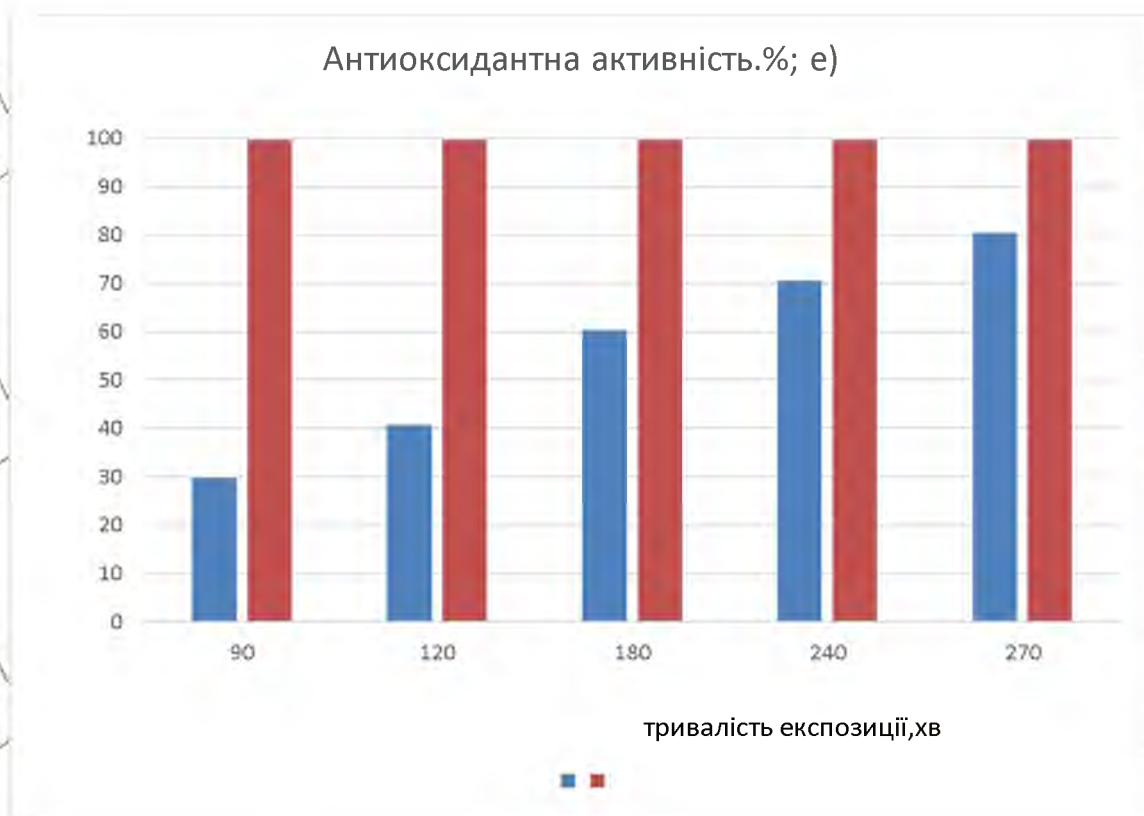


Рис. 3.5 Антиоксидантна активність зразка

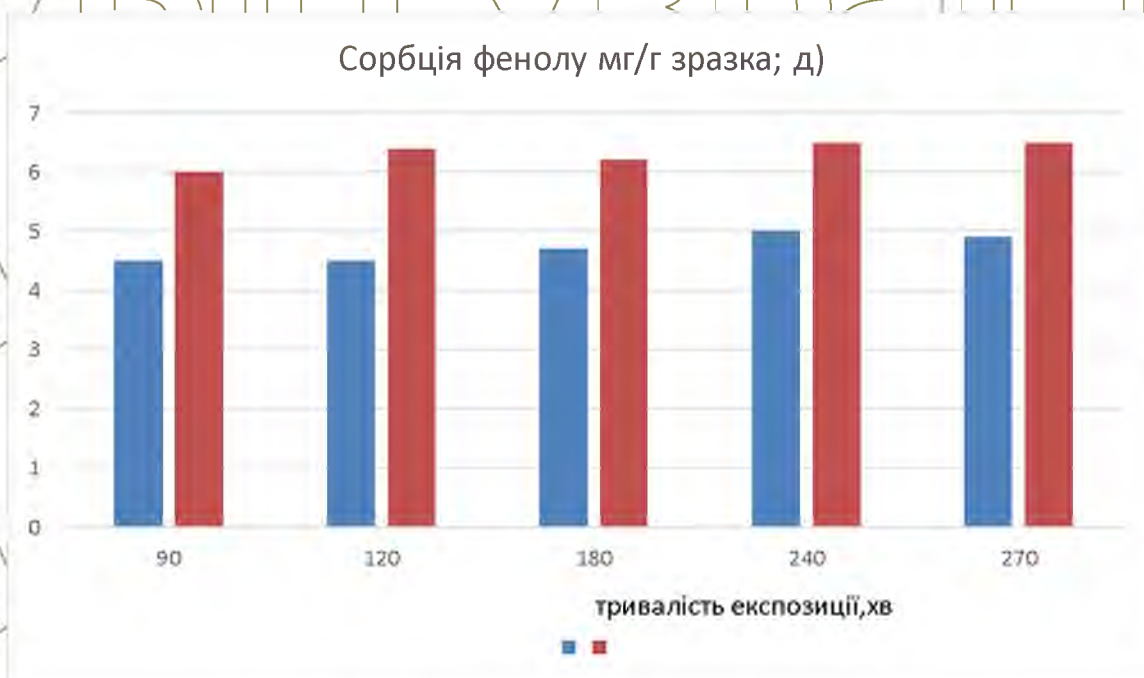


Рис. 3.6. Сорбція фенолу, мг/г

Як показують дані, наведені на рис. 1е, при одній і тій же тривалості контакту лужного реагенту з сировиною антиоксидантна активність препаратів, отриманих 7 % розчином лугом, в 1,1 – 3,3 разів вище, ніж така при

використанні 3 % розчину гідроксиду натрію. Зі збільшенням часу обробки грибів антиоксидантна активність виділених зразків збільшується у випадку застосування слабого розчину лужного агенту.

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

НУБІП України

ВИСНОВКИ

1. Виділені з грибів зразки біополімерного комплексу можна розглядати як поліфункціональні дієтичні добавки та функціональні інгредієнти, що проявляють сорбційні, антиоксидантні, антацидні властивості. Як ентеросорбенти вони не поступаються харчовим волокнам пшеничних висівків та суттєво перевершують виділені індивідуально глюкан та хітин.
2. Ступінь прояву біополімерними комплексами притаманних ними функціонально-фізіологічних властивостей можна регулювати, змінюючи умови виділення, які, в свою чергу, впливають на співвідношення складових у зразках. Доцільним є дослідження біополімерних комплексів в умовах *in vivo* як підґрунтя для визначення при яких порушеннях функціонування організму їхня дія буде найбільш ефективною.
3. Біополімерний комплекс грибів можна позиціонувати як засіб інгібування пероксидного окиснення жирів. Це дозволить запобігти деструкції есенціальних жирних кислот і таким чином зберегти біологічну цінність продуктів харчування. Отримані дані дозволяють припустити, що властивість зразків підвищувати рН системи залежить від вмісту в їхньому складі амінополісахариду та ступеня його ацетилювання. Із зменшенням останнього показника їхня ефективність зростає. Це дозволяє припустити хімічну природу зв'язування хлоридної кислоти з вільними аміногрупами хітину/хітозану.
4. Відповідно до сучасного стану знань, гриби *Pleurotus* є хорошим джерелом біологічно активних речовин. Хоча в останні роки кількість дослідження впливу *Pleurotus* на здоров'я грибів швидко зростає, більшість з них участь у експериментах *in vitro* або *in vivo* на тваринах.

5. Встановлено, що домінуючим компонентом отриманих препаратів, є полісахариди. Збільшення концентрації розчину лужного агента та часу його контакту з сировиною сприяє зниженню сумарної масової частки вуглеводів у зразках. У складі гідролізатів полісахаридів ідентифіковано глюкозу і глюкозамін – моносахарид, який є структурною ланкою амінополісахаридів.
6. Поки що було відносно мало клінічних випробувань на людей. У той же час необхідно підкреслити той факт, що не всі механізми дії біоактивних речовин у гливи були повністю досліджені. В даний час інтенсивно застосовуються найсучасніші методики дослідження для отримання нових метаболітів з грибів. Потрібно буде їх перевірити фармакологічні ефекти *in vitro* та клінічні випробування. Виявлення синергічного ефекту ці речовини в організм людини давали б можливість повною мірою скористатися перевагами зміцнення здоров'я та лікувального потенціалу гливи звичайної.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Akyuz M, Kirbag S. (2010) Nutritive value of wild edible and cultured mushrooms. Turk J Biol 34: 97–102.
2. Badu M, Twumasi SK, Boadi NO. Effect of lignocellulosic in wood used as substrate on the quality and yield of mushrooms. Food Nutr Sci. 2011;2:780–784.
3. Beltran-Garacia MJ, Estarron-Espinosa M, Ogura T. (1997) Volatile compound secreted by the oyster mushroom (*Pleurotus ostreatus*) and its antibacterial activities. J Agric Food Chem 45(10):4049-4052.
4. Cultivation of *Pleurotus ostreatus* and other edible mushrooms [Електронний ресурс] // 2009. – 2009. – Режим доступу до ресурсу: https://www.researchgate.net/publication/40444029_Cultivation_of_Pleurotus_ostreatus_and_other_edible_mushrooms
5. Gibberellic acid in plant [Електронний ресурс] // 2013. – 2013. – Режим доступу до ресурсу: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4002599/>.
6. Guo X., Zou X., Sun M. Effect of phytohormones on mycelial growth and exopolysaccharide biosynthesis of medicinal mushroom *Phellinus* [corrected] *linteus* // Bioprocess Biosyst Eng. — 2009. — V. 32, N 5. — P. 701–709.
7. Guo X., Zou X., Sun M. Effect of phytohormones on mycelial growth and exopolysaccharide biosynthesis of medicinal mushroom *Phellinus* [corrected] *linteus* // Bioprocess Biosyst Eng. — 2009. — V. 32, N 5. — P. 701–709.
8. Han Y. H., Ueng W. T., Chen L. C., Cheng S. Physiology and ecology of *Lentinus edodes* (Berk) Sing. // Mushroom Science XI. — 1981. — P. 623–658.
9. Manzi P., Gambelli L., Marconi S., Vivanti V. and Pizzoferrato L. (1999) Food Chem., 65, 477–482

10. Ravimannan, N., Arulanantham, R., Pathmanathan, S. and Niranjan, K. 2014. Alternative culture media for fungal growth using different formulation of protein sources. *Annals. Biol. Res.* 5, 36-39.
11. Rop O., Mlcek J., Jurikova T. Beta-glucans in higher fungi and their health effects // *Nutrition Reviews.* – V. 67, № 11. – 2009. – p. 624 – 631.
12. Sopit, V. 2006. Cyster mushroom cultivation on different cellulosic substrates. *Res. J. Agri. Biol. Sci.*, 2(6), 548-551.
13. Tolera Kumela D. and Solomon Abera (2017) *Food Science & Nutrition* 5.5, 989–996.
14. Vinklarkova K., Sladky Z. Exogenous Regulators in the Mycelium of *Pleurotus ostreatus* after Exogenous Application // *Folia Microbiologica.* — 1978. — V. 23, N 1. — P. 55–59
15. Shekhon, B. and Jairath, S. 2010. Prebiotics, probiotics and symbiotics: an overview. *Indian Journal of Pharmaceutical Education and Research* 2: 13-29
16. Simmering, R. and Blaut, M. 2001. Pro- and prebiotics – the tasty guardian angles? *Applied Microbiology and Biotechnology* 55: 19-28
17. Smith, R. and Gilkerson, E. 1979. Quantification of glycosaminoglycan hexosamine using 3-methyl-2- benzothiazolone hydrazone hydrochloride. *Analytical Biochemistry* 98: 478-480.
18. Manzi P. Beta glucans in edible mushrooms / P. Manzi, L. Pizzoferrato // *Food Chem.* – 2000. – Vol. 68. – P. 315–318
19. Andres S. *Mushrooms: Types, Properties and Nutrition* / S. Andres, N. Baumann. – N.J.: Nova Science Publishers. –2012. – 381 p.
20. Билай В. И. Методы экспериментальной микологии. Справочник / В. И. Билай, И. А. Дудка, Є. З. Коваль и др. / Под ред. В. И. Билай. – К.: Наукова думка, 1982. – 552 с.
21. Бисько Н. А. Высшие съедобные базидиомицеты в поверхностной и глубинной культуре. – К.: Наук. думка, 1983. – 312 с.
22. Біотехнологія культивування шапкових грибів на прикладі гливи звичайної [Електронний ресурс] // 2012. – 2010. – Режим доступу до

ресурсу: <https://vseosvita.ua/library/biotehnologia-kultivuvanna-sapkovih-gribiv-na-prikladi-glivi-zvicajnoi-222013.html>.

23. Бухало А. С. Высшие съедобные базидиомицеты в чистой культуре. — К.: Наук. думка, 1988. — 157 с.
24. Высшие съедобные базидиомицеты в поверхностной и глубокой культуре / Под общ. ред. И. А. Дудки. — К.: Наук. думка, 1983. — 312 с.
25. Гармаш С. М. Дослідження біохімічних властивостей біогумусу та біогумату // Вопросы химии и хим. технологии. — 2004. — № 4. — С. 82–84.
26. Гормональний комплекс рослин і грибів / Ситник К. М., Мусатенко Л. І., Васюк В. А. та ін. — Київ: Академперіодика, 2003. — 186 с. Buchalo A. S., Mitropolska N. Yu., Mykchaulyova O. B. Catalogue of the culture collection of mushrooms. IBK. — Kyiv: N.G. Kholodny Institute of Botany, NA of Sciences et Ukraine, NVF «Slavutichdelfin», 2006. — 36 p.
27. Дієго Кунья Зіед, Артуро Пардо-Хіменес, Джордж Азеведо де Олівейра, Хайме Карраско і Марія Луїза Зераїк, Вивчення відходів у своїх ковдрах, що додаються в виробництво і в цілях *Pleurotus ostreatus* var. Флорида. Індійський журнал мікробіології, 10.1007 / s12088-019-00805-1, (2019).
28. Дудка И. А. Промышленное культивирование съедобных грибов. — К.: Наук. думка, 1978. — 261 с.
29. Екстенсивний та інтенсивний спосіб вирощування гливи [Електронний ресурс] // 2015. — 2015. — Режим доступу до ресурсу: <http://agroua.net/plant/catalog/cg-50/c-131/info/cag-234/>.
30. Изучение культивирования штамма *Pleurotus ostreatus* в глубокой культуре на среде зернового экстракта / Р. В. Уланова, В. Г. Гольдштейн, В. В. Колпакова и др. // Достижения науки и техники АПК. 2018. Т. 32. № 8. С. 82–87. DOI: 10.24411/0235-2451-2018-10822.
31. Кудря, А. М. Утилизация отходов растениеводства в Краснодарском крае путем биоконверсии при производстве *Pleurotus ostreatus* / А. М. Кудря // Материалы V научно-практической конференции «Научное обеспечение агропромышленного комплекса» / КубГАУ Краснодар, 2003 - с. 336-337

32. Кузнецова О. В., Заклесник Н. В. Дослідження впливу біостимуляторів та мінеральних речовин на ріст міцелію *Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr.) // Вісник Донецького університету. — Серія А «Природничі науки». — 2006. — Ч. 2, № 1. — С. 327–332.

33. Пат. 19347 UA, МПК 5 C07C 233/31, A01 N 37/20. Диметиловий ефір Нацети ламінофумарової кислоти, який має ріст-стимулюючу активність / Просяник О. В., Несгерова О. Ю., Кольцов М. Ю., Костяновський Р. Г. Заявл. 05.11.1991; Опубл. 25.12.1997, Бюл. № 6.

34. Нікітіна, О. В. Отримання та характеристика біополімерних комплексів гриби звичайної (*Pleurotus ostreatus*) [Текст] / О. В. Нікітіна, Н. К. Черно, С. О. Озоліна. // Харчова наука і технологія. — 2015. — Вип. 9, № 3. — С. 19–25. doi: 10.15673/2073-8684.3/2015.50276

35. Соломко Е. Ф. Вплив біостимуляторів на ріст *Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr.) KUMM // Укр. бот. журн. — 1989. — Т. 46, № 6. — С. 57–61.

36. Соломко Е. Ф. Вплив біостимуляторів на ріст *Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr.) KUMM // Укр. бот. журн. — 1989. — Т. 46, № 6. — С. 57–61.

37. Ю. А. Вунатян, Є. А. Джагацпанян Методические указания по определению микроколичеств пестицидов в продуктах питания, кармах и внешней среде. // Центр научно-технической информации — 1994. — 1991. — С. 91.

38. Черно, Н. К. Пищевые волокна: состав, свойства, технология производства: дис. док. техн. наук / Н. К. Черно. — Одесса, 1990 — 451 с.

39. Черно Н. К. Структура та властивості β-глюкану *Saccharomyces cerevisiae*, отриманого пероксидним методом / Н. К. Черно, К. І. Шапкіна // Наукові праці Одеської національної академії харчових технологій. — 2013. — Вип. 46. — Т. 2. — С. 104–108

40. Канарская З. А. Получение и свойства хитин-глюканового адсорбента из биомассы грибов: дис. канд. техн. наук / З. А. Канарская. — Казань, 2000. —