

Рекомендована д-м фармац. наук, проф. В.С. Кисличенко
УДК 582.28

РОЗРОБКА БІОТЕХНОЛОГІЧНОЇ СХЕМИ ВИРОЩУВАННЯ ГРИБІВ ШИЇТАКЕ

©¹Н.А. Бісько, ² П.Д. Пашнєв, ³В.П. Попович, ³Н.О. Федоритенко

¹Інститут ботаніки імені Н.Г. Холодного

²Національний фармацевтичний університет, Харків

³Національний медичний університет імені О.О. Богомольця

Резюме: проведено дослідження визначення оптимальних умов для росту біомаси гриба Шиїтаке. В результаті розроблена біотехнологічна схема вирощування та визначені умови ліофільного сушіння біомаси гриба.

Ключові слова: гриб Шиїтаке, глибинне культивування, ліофільне сушіння.

Вступ. У багатьох країнах світу їстівні гриби використовуються не тільки як продукти харчування – джерела харчового білка, але і як цінна сировина для одержання речовин лікувально-профілактичної й лікарської дії.

Новим і досить перспективним напрямком у виробництві грибної біомаси є глибинне рідкофазне культивування міцелію вищих грибів на основі методів мікробіологічного синтезу [3, 4]. Використання харчової сировини, що мало утилізується, в складі рідких живильних середовищ і висока швидкість росту грибної біомаси поставили цей процес у ряд конкурентоспроможних технічних рішень промислового одержання протеїну.

Методи дослідження. Дослідження проводились на базі Інституту ботаніки імені Н.Г. Холодного НАН України (м. Київ). Мета роботи – отримати суху біомасу гриба Шиїтаке методом глибинного культивування. Вибір методу культивування базувався на тому, що швидкість росту міцелію гриба в декілька разів швидша, ніж при екстенсивному та інтенсивному способах культивування за однакових показників продуктивності. Глибинне культивування запобігає потраплянню сторонньої мікрофлори на стерильний субстрат.

Для того, щоб визначити на якому живильному середовищі найвищі показники продуктивності біомаси за певний період часу, ми висіяли на різних живильних середовищах однаковий штам гриба Шиїтаке 353. Тип посівного міцелію – рідкий інокулюм, що одержують у процесі глибинного культивування вищих їстівних базидіомицетів. У дослідях з вивчення росту гриба *Lentinus edodes* як живильні середовища використовували неохмільне пивне сусло, глюкозо-пептидне середовище, відвар крохмалю, відвар борошна в об'ємі 100 мл кожне.

Середовища розливали по 100 мл в колби, щільно закривали і простерилізували в автоклаві 30 хв при 0,7 атмосфери та 124° С.

Як посівний матеріал брали музейний штам 353 гриба Шиїтаке. Посів штаму проводили одночасно на всі середовища. Інкубацію культури здійснювали при температурі 27 °С. Облік робили на 3, 9, 15-ту добу. Спостереження за ростом колоній припинили після досягнення його максимального розміру. Максимальний ріст колоній спостерігали на 15 добу. Вивчення морфології міцелію проводили візуально на середовищах.

Результати й обговорення. Найбільш інтенсивний ріст біомаси спостерігався на середовищі пивне сусло неохмільне. Менш інтенсивний ріст спостерігали на глюкозо-пептидному середовищі, середовищі з відвару борошна, середовищі з відвару крохмалю.

Швидкість росту міцелію визначали за формулою:

$$PK=dhg/t,$$

де PK – коефіцієнт росту,

d – діаметр колонії (мм),

h – висота колонії (мм),

g – щільність колонії (бал),

t – вік колонії (доба).

Щільність колонії визначали візуально за трибальною шкалою (1 бал – рідка, 2 – середня, 3 – щільна).

Одержані результати наведені в таблиці 1.

Виходячи з одержаних результатів, як живильне середовище в подальших дослідженнях ми використовували середовище з найвищим коефіцієнтом росту – 90 – пивне сусло неохмільне в загальному об'ємі 2000 мл. Пивне сусло розливали по 100 мл в мікробіологічні матраци, щільно закривали і стерилізували. Стерилізацію проводили в автоклаві ГК-100 30 хв при 0,7 атмосфери та 124°С. Вплив рН на ріст міцелію на середовищі пивного сусла визначали потен-

Таблиця 1. Показники росту міцелію штаму 353 гриба Шіітаке на різних живильних середовищах

Живильні середовища	Показники росту міцелію				
	діаметр колонії (мм) d	висота колонії (мм) h	щільність колонії (бал) g	вік колонії (доба) t	коефіцієнт росту РК
Пивне сусло неохмільне	90	5	3	15	90
Відвар борошна	20	2	1	15	2,6
Глюкозо-пептидне середовище	30	2	1	15	4
Відвар крохмалю	15	2	1	15	2

ціометричним методом, коректуванням показника концентрації водневих іонів від 3 до 9. За допомогою рН-метра ("Ионметр универсальный" ЭВ – 74) визначили рН пивного сусла, який після стерилізації становив 5,1. Для перевірки чистоти та підготовки активного посівного матеріалу проводили розсівання міцелію на свіжий сусло-агар та вирощували міцелій 8 діб у термостаті при (27±1)°С.

Одним із факторів, що визначають високу врожайність міцелію при глибинному способі вирощування, так само, як і при екстенсивному, є якість і правильна доза внесення посівного міцелію. Кількість посівного матеріалу, необхідного для його швидкого росту й одержання гарного врожаю при глибинному способі культивування, становить 3-5% від маси субстрату. Зі збільшенням дози внесеного міцелію прискорюється вивільнення СО із субстрату й підвищується його температура. Зменшення кількості посівного матеріалу до 1-1,5% призводить до повільного освоєння поживного середовища грибом і підвищення небезпеки його заселення конкурентними мікроорганізмами.

Вирощену виробничу культуру Шіітаке подібнювали та поміщали в стерильний посуд гомогенізатора і гомогенізували 1,5 хв при 6000 об./хв. Гомогенізовану виробничу культуру переносили зі склянки гомогенізатора в колбу. З колби, за допомогою аптечної піпетки на 10 мл, переносили по 5 мл гомогенізату в мікробіологічні матраці (19 матраців) з пивним суслем неохмільним, в стерильних умовах, над спиртовою горілкою. Після цього всі матраці були щільно закриті і перенесені в термостатичне приміщення з постійною температурою 26 °С. Освітлюваність приміщення становила 200-300 люкс. Контроль проводився на 12-й, 21-й, 28-й день. На 12-й день спостерігалось збільшення біомаси на 30%. На 21-й день біомаса збільшувалась на 60%. На 28-й день біомаса збільшувалась на 100%.

На 28 день росту проводилось вилучення міцелію гриба Шіітаке з середовища. З 19 мат-

раців були придатні для подальшої роботи з міцелієм 12 матраців. Вилучення проводилось в асептичних умовах. Для цього з мікробіологічних матраців за допомогою попередньо оброблених гачка та ложки виймався міцелій і поміщався в заздалегідь підготовлену та зважену скляну банку. Культуральну рідину проціджували в іншу банку через медичну марлю. Залишки міцелію на марлі після проціджування поміщались в банку з вийнятим попередньо міцелієм. Після вилучення міцелію з усіх мікробіологічних матраців банка з міцелієм зважувалась на технічних вагах і розраховувалась маса міцелію гриба Шіітаке яка становила близько 109 г.

На основі результатів дослідження, що проведено в відділі мікології Інституту ботаніки імені Н.Г. Холодного НАН України, та випробувань на колекційному штамі вищого базидіального гриба *Lentinus edodes* розроблена біотехнологічна схема вирощування грибів Шіітаке (рис. 1)

Технологічний процес вирощування міцелію гриба Шіітаке складається з таких стадій:

- підготовка поживних середовищ та посуду;
- підготовка інокулюму:

- а) на скошеному агаризованому середовищі;
- б) на рідкому середовищі у колбах поверхневим методом:

в) гомогенізація частини виробничої культури для отримання інокулюму для наступних етапів вирощування глибинної культури;

– вирощування міцелію у мікробіологічних матрацах;

- вилучення міцелію гриба Шіітаке.

Сушіння міцелію гриба Шіітаке проводилось на базі лабораторії ПП "Букур" м. Київ (завод "Fresh Up"). Для сушіння біомаси гриба Шіітаке обрано метод ліофілізації, який дозволяє зберегти основні біологічні властивості сировини.

Для сушіння міцелію гриба Шіітаке використовувалась ліофільна сушарка моделі «ИНЕЙ – 6», яка призначена для сублімаційного сушіння в робочій камері продуктів, що містять воду і попередньо заморожені, з метою їх тривалого зберігання.

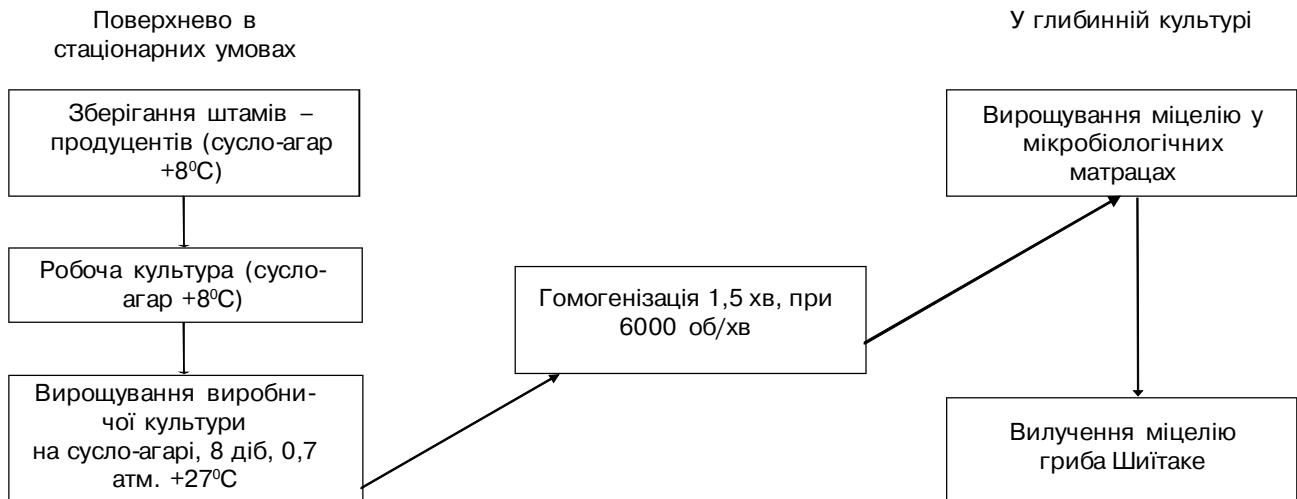


Рис. 1. Біотехнологічна схема вирощування біомаси гриба Шіітаке.

У піддон місткістю 300 мл поміщався попередньо заморожений міцелій гриба Шіітаке вагою 109 г. Піддон швидко поміщали в охолоджену камеру сублиматора, який загерметизовувався. Сушіння проводилось при температурі конденсатора 50°C. Тиск в системі становив 30 Па, ліофілізація тривала 1,5 год.

Отриманий ліофілізований порошок зважувався на терезах ВЛР 200. Маса отриманого ліофілізованого порошку становила 13,1г.

Висновок. Таким чином, глибинне культивування є новим біотехнологічним методом вирощування біомаси грибів у замкнутій системі на рідкому живильному середовищі. Цей спосіб інтенсивно розвивається в багатьох країнах як самостійна галузь біотехнологічної промисловості. Глибинне культивування спрямоване на одержання великої кількості грибної маси для отримання біологічно активних речовин.

Література

1. Ризман М. Биологически активные добавки. Неизвестное об известном. – Арт Бизнес Центр, 1998. – С. 129-136.
2. Leatham G. Cultivation of Shiitake, the Japanese forest mushroom, on logs. – USA: Forest Products Journal. – 1982. – V. 32, № 8. – P. 29-35.
3. Cotter V.T. et al. Shiitake farming in Virginia. – Blacksburg, VA: Virginia Tech. and Virginia State University,

- Virginia Cooperative Extension Service, 1987. – 438 p.
4. Boughman M. Financial analysis of Shiitake mushroom production. In Shiitake Mushrooms: Proceedings of a National Symposium and Trade Show. – St. Paul, MN: University of Minnesota, Educational Development System, 405 Coffey Hall, 1989. – P. 169-179.
5. Harris B. Growing Shiitake commercially. Madison, WI: Science Tech. Publishers 1986. p 134-136.

РАЗРАБОТКА БИОТЕХНОЛОГИЧЕСКОЙ СХЕМЫ ВЫРАЩИВАНИЯ ГРИБОВ ШИИТАКЕ

¹Н.А. Бисько, ²П.Д. Пашнев, ³В.П. Попович, ³Н.А. Федоритенко

¹Институт ботаники имени Н.Г. Холодного

²Национальный фармацевтический университет, Харьков

³Национальный медицинский университет имени А.А. Богомольца

Резюме: проведены исследования по определению оптимальных условий для роста биомассы гриба Шіітаке. В результате разработана биотехнологическая схема выращивания и определены условия лиофильной сушки биомассы гриба.

Ключевые слова: гриб Шіітаке, биотехнологическая схема, лиофильная сушка биомассы гриба.

ELABORATION OF BIOTECHNOLOGICAL SCHEME OF SHIITAKE MUSHROOMS GROWING

¹N.A. Bisko, ²P.D. Pashnyev, ³V.P. Popovych, ³N.O. Fedorytenko

¹Institute of Botany by N.H. Kholodny

²National Pharmaceutical University, Kharkiv

³National Medical University by O.O. Bohomolets

Summary: researches of definition of optimum conditions for biomass growth of Shiitake mushroom was carried out. The biotechnological scheme of cultivation was developed and conditions for lyophilic drying of mushroom biomass were defined as a result.

Key words: shiitake mushroom, deep cultivation, lyophilic drying.

Рекомендована д-м біол. наук, проф. І.М. Кліщем

УДК 616.1/4:615.04

ФАРМАЦЕВТИЧНА ОПІКА ПАЦІЄНТІВ РАНЬОГО ДИТЯЧОГО ВІКУ З ФУНКЦІОНАЛЬНИМИ ПОРУШЕННЯМИ ТРАВЛЕННЯ

©І.А. Зупанець, І.А. Отрішко, С.К. Шебеко, А.П. Свобода

Національний фармацевтичний університет, Харків

Резюме: проблема корекції дисбіотичних порушень у пацієнтів раннього дитячого віку є досить важливою. У сучасних умовах розвитку медицини та фармації саме на фахівця-провізора покладається ряд найважливіших функцій, пов'язаних з питаннями виявлення "загрозливої" симптоматики, вибору препаратів для безрецептурного симптоматичного лікування та надання рекомендацій щодо раціонального застосування лікарських засобів. Обізнаність провізора у питаннях здійснення фармацевтичної опіки дітей перших років життя є запорукою більш обґрунтованого та обізнаного підходу до вирішення проблем раціоналізації лікарської терапії та підвищення її безпеки.

Ключові слова: фармацевтична опіка, дисбіотичні порушення, пробіотики, пребіотики.

У час високих комп'ютерних технологій, технічного прогресу та сумнівного екологічного стану неможливо стверджувати, що мікроекосистема організму людини не перебуває під загрозою. На жаль, ця теза стосується не тільки дорослого населення, але також і дітей, у тому числі й немовлят. Серед функціональних порушень травлення у дітей перших років життя вагому частку займають дисбіотичні явища в кишечнику [6, 13, 18].

Найбільш поширеною причиною дисбіотичних порушень є нераціональне застосування антибактеріальних препаратів і хіміотерапевтичних засобів [8, 15, 19, 22, 23, 25, 28].

Дисбактеріоз кишечника (ДК) ((МКХ-10: K63,8, 0) (в англійській літературі прийнятий термін "синдром бактеріального розростання", bacterial

overgrowth) – порушення якісного та кількісного складу симбіотичної мікрофлори, пов'язані з порушенням захисних і компенсаторних пристосувань організму з відповідними клінічними проявами [1, 3, 4].

Розрізняють чотири ступені дисбактеріозу, кожен з яких характеризується різними клінічними проявами [11, 14].

Перший ступінь – латентна фаза, так званий компенсований дисбактеріоз, характеризується переважанням анаеробів над аеробами, при цьому рівень біфідо- і лактобактерій зберігається в межах норми. Розвивається в здоровій дитини та проявляється тільки після впливу певних негативних факторів, зокрема порушення режиму або якості харчування. Дисфункція кишечнику відсутня. Клінічні прояви мінімальні.