

КУЛЬТИВУВАННЯ *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) Kumm. НА РОСЛИННИХ ВІДХОДАХ

Т. А. Круподьорова¹
В. Ю. Барштейн¹
Л. В. Пещук²
О. І. Гащук²
Є. Є. Костенко²

¹Державна установа «Інститут харчової біотехнології та геноміки Національної академії наук України», Київ
²Національний університет харчових технологій, Київ, Україна

E-mail: krupodorova@gmail.com

Отримано 24.04.2014

Метою роботи було вивчення впливу субстратів культивування (відходів агропромислового комплексу) на накопичення біомаси, амінокислотний склад, вміст полісахаридів та сорбційну здатність щодо важких металів біомаси їстівного гриба *Pleurotus ostreatus*.

Досліджено можливості поверхневого культивування *P. ostreatus* на субстратах на основі відходів агропромислового комплексу, характерних для України. Інтенсивність накопичення біомаси (18–24,1 г/л) та високий рівень конверсії субстратів (33,3–44,6%) показали перспективність для культивування нових субстратів — шротів зародків пшениці, амаранту (після CO₂-екстракції) та макухи рапсу. Знайдено оптимальні концентрації відібраних субстратів: 70 г на 1 л дистильованої води — для шротів зародків пшениці та амаранту, 60 г/л — макухи рапсу. У гідролізаті біомаси гриба виявлено 17 амінокислот, із них 9 незамінних. Встановлено значний вплив субстратів культивування на кількісний склад амінокислот. Загальним для всіх зразків біомаси було переважання серед замінних амінокислот глютамінової та аспарагінової кислот, аргініну, серед незамінних — лейцину, лізину та цистину. Вміст ендopolісахаридів у біомасі гриба та екзopolісахаридів у культуральній рідині дещо різнився залежно від обраних субстратів. Сорбція важких металів біомасою *P. ostreatus* збільшувалась у ряду Hg²⁺ < Pb²⁺ < Cd²⁺. Встановлено біологічну активність біомаси *P. ostreatus* як джерела важливих незамінних амінокислот та ендopolісахаридів, а також сорбційну здатність щодо токсичних іонів Pb²⁺, Cd²⁺, Hg²⁺, що є основою використання її як інгредієнта в складі функціональних продуктів харчування або продуктів спеціального призначення з метою підвищення їхньої поживної цінності та виведення з організму людини важких металів.

Ключові слова: *Pleurotus ostreatus*, рослинні відходи, сорбція важких металів.

Створення продуктів харчування, що входять у щоденний раціон людини, регулюючи біохімічні реакції та фізіологічні функції організму, є актуальною проблемою. Визначення таких продуктів може відрізнитися, вони можуть мати різні назви, що їм надають у тій чи іншій країні (функціональні продукти харчування, продукти харчування спеціального дієтичного призначення тощо), але значення їх від цього не зменшується [1]. Економічні та екологічні проблеми України, їхній негативний вплив на якість і структуру харчування, практична відсутність зазначених продуктів на ринку нашої країни зумовлюють необхідність досліджень, спрямованих на пошук сировини, передусім природного походження, що містить потрібні речовини. Серед них — харчові протеїни, дефіцит яких залишається нагальною проблемою. Особливий інтерес, як джерело

протеїну, полісахаридів та інших біологічно активних речовин (БАР) становлять їстівні базидіоміцети, серед яких — гриб *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) Kumm. (глива звичайна), відомий своїми смаковими якостями та протимікробними, противірусними, протипухлинними, антиоксидантними, гіперглікемічними, протизапальними, гепатопротекторними, гіпохолестеримічними, імуномодулювальними властивостями [2].

Виділення міцелію *P. ostreatus* у глибинній та поверхневій культурі є більш економічним та контрольованим порівняно з вирощуванням плодівих тіл. Особливий інтерес дослідників спрямований на одержання в глибинній культурі біомаси [3–20] і полісахаридів *P. ostreatus* [10–13, 15–17, 19, 21, 22] та вивчення їхньої біологічної активності [12, 16, 17, 19, 21–25]. Вирощування гливи на відходах сільського господарства

(специфічних для тієї чи іншої країни) є загальноновизнаною практикою [11, 13, 16, 20, 26, 27]. Попри значну кількість публікацій, лише деякі з них присвячені використанню відходів різного походження для продукування біомаси та БАР *P. ostreatus* у культурі на рідких живильних середовищах [11, 16, 20]. Недостатньо вивчено вплив натуральних субстратів на характеристики біомаси та метаболіти гриба. Виділено полісахариди *P. ostreatus* та досліджено їхню біологічну активність за умов застосування як основного джерела вуглецю відходів сояшнику [16]. Встановлено можливість використання екстрактів відходів лущиння маніоки, ямсу, солодкої та звичайної картоплі, кореневища рогозу, подорожника та стимулювальний вплив екстракту ямсу на накопичення біомаси *P. ostreatus*, кількість в ній протеїну та екзополісахаридів [11]. Суміш відходів виноробства і пшеничних висівок забезпечувала високий вихід біомаси *P. ostreatus*, *Ganoderma lucidum*, *Lentinus edodes* [20].

Метою роботи було вивчення впливу субстратів культивування (відходів агропромислового комплексу) на накопичення біомаси, амінокислотний склад, вміст полісахаридів та сорбційну здатність щодо важких металів біомаси *P. ostreatus*.

Матеріали і методи

Об'єктом дослідження був штам істівного гриба *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) Kumm. (глива звичайна) 551 з колекції культур шапинкових грибів Інституту ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України [28].

Основою субстратів для поверхневого культивування на рідкому середовищі були відходи агропромислового комплексу (олійно-екстракційного виробництва): шпроти насіння вівса, розторопші, льону, гарбуза, гірчиці, плодів шипшини, зародків пшениці, шрот насіння амаранту після CO₂-екстракції, макуха з насіння рапсу, сояшнику, рижю, волоського горіха. Згідно з результатами попередніх досліджень з накопичення біомаси вміст кожного відходу в живильному середовищі становив 60 г на 1 літр дистильованої води.

Субстрат стерилізували в автоклаві 20 хв за тиску 1 атм у колбах об'ємом 0,25 л. Контрольним середовищем для оцінки росту *P. ostreatus* слугувало найпоширеніше глюкозо-пептон-дріжджове (ГПД), г/л: глюкоза — 25,0; пептон — 3,0; дріжджовий екстракт — 2,0; KH₂PO₄ — 1,0; K₂HPO₄ — 1,0; MgSO₄·7 H₂O — 0,25; вода — 1 л.

Після стерилізації субстрат інокулювали (по три диски, діаметром 8 мм) міцелієм

P. ostreatus, що був попередньо вирощений на чашках Петрі з агаризованим ГПД. Інокульовані субстрати інкубували в термостаті за температури 26 ± 2 °C 14 діб. Для встановлення оптимальної для росту гриба концентрації відходу (у кількості, г/л: 40, 50, 60, 70 або 80) здійснювали поверхневе культивування в рідкій фазі протягом 7 діб. Ріст грибів оцінювали за абсолютно сухою масою (а. с. м.) міцелію, який відфільтровували та висушували за температури 105 °C до постійної маси. Ефективність біоконверсії (біологічну ефективність — БЕ) субстратів розраховували за формулою:

$$\left[\frac{\text{абсолютно суха маса міцелію}}{\text{абсолютно суха маса відходів}} \right] \times 100\% .$$

Для визначення амінокислотного складу, вмісту ендopolісахаридів та сорбційної активності біомасу піддавали сушінню впродовж 36 год за температури 60 °C. Амінокислотний склад протеїнів біомаси досліджували на амінокислотному аналізаторі Т-339 (Mikrotechna, Чехія) після відповідної обробки зразків [29]. Слід зазначити, що кислотний гідроліз зразків має певні обмеження й не дає змоги визначити наявність триптофану, аспарагіну та глутаміну (останні переходять у пул аспарагінової та глутамінової амінокислот і детектуються разом з ними). Для кількісного визначення ендopolісахаридів брали подрібнену наважку сухого міцелію у кількості 100 мг, перенесли в пробірку об'ємом 20 мл, додавали 5 мл 1М NaOH, закривали пробкою та екстрагували в термостаті при 60 °C протягом 1 год, періодично перемішуючи. Отриманий екстракт центрифугували 20 хв за 6000 об/хв. Осад відділяли, вміст полісахаридів у супернатанті визначали фенолсірчаноокислим методом [30]. Виміри виконували на фотоелектрокалориметрі за 490 нм у кюветі 5 мм. Контролем був розчин, який замість супернатанта містив 1 мл дистильованої води, 1 мл 5%-го водного розчину фенолу та 5 мл концентрованої сірчаної кислоти.

Екзополісахариди в культуральній рідині, після культивування відібраних видів грибів на вищезазначених субстратах, визначали за методикою [31]. Для цього культуральну рідину упарювали у 2–3 рази, осаджували етиловим спиртом (1:1) і залишали при температурі 4 °C до повного осадження. Осаджені полісахариди відділяли центрифугуванням, діалізували 3 доби проти дистильованої води, переосаджували спиртом, відділяли центрифугуванням та сушили за 4 °C до постійної маси.

Для визначення сорбційної здатності готували вихідні розчини (0,1 моль/л) солей Pb^{2+} , Hg^{2+} , Cd^{2+} розчиненням наважок: Cd (ос. ч.) у 1,0 моль/л H_2SO_4 ; $Pb(NO_3)_2$, $Hg(NO_3)_2 \cdot 0,5 H_2O$ (х.ч.) у 0,1 моль/л HNO_3 . Стандартизацію проводили: комплексонометрично (Pb) [32] та меркуриметрично (Hg) [33]. Використовували металохромні індикатори: ксиленоловий оранжевий (КО), ч. д. а. (Chemapol) та сульфоназо III (СФАЗ), ч. д. а. (Merk) і HCl , HNO_3 , H_2SO_4 , $NaOH$, $NaCl$ (х.ч.). Відповідні вихідні розчини (1,0 моль/л) готували розведенням концентрованих. Воду очищали за загальноприйнятою методикою [34]. Робочі розчини готували розведенням вихідних перед проведенням експерименту.

До наважки сухої подрібненої біомаси *P. ostreatus* додавали 30 мл теплої (45–50 °С) дистильованої води, перемішували і залишали на 10 хв для набухання. До суміші додавали 1 мл 0,1 М розчину солі досліджуваного металу, перемішували 1 год за допомогою магнітної мішалки, фільтрували крізь складчастий фільтр. У фільтраті визначали вміст іонів металів за методом градувального графіка. Кількість Pb^{2+} , Hg^{2+} , Cd^{2+} , що сорбувалася порошком біомаси гриба, визначали як різницю між внесеною масою Pb^{2+} , Hg^{2+} , Cd^{2+} і масою Pb^{2+} , Hg^{2+} , Cd^{2+} , що була виявлена у фільтраті. рН розчинів доводили за допомогою розведених розчинів HNO_3 і $NaOH$, CH_3COOH та уротропіну (крист.).

Pb^{2+} у фільтраті знаходили згідно з описаною раніше методикою [35]. У мірну пробірку місткістю 10 мл вносили 1 мл фільтрату, 1 мл 0,01 М HNO_3 до рН 3, додавали 2 мл 0,001 М водного розчину СФАЗ і доводили загальний об'єм дистильованою водою до 10 мл. Вимірювали оптичну густину при $\lambda = 660$ нм у кюветі з $l = 0,1$ см відносно води через 5 хв після змішування розчинів.

Визначення Cd^{2+} та Hg^{2+} у фільтраті проводили відповідно до [36]. У мірну склянку місткістю 50 мл вносили 1 мл фільтрату, додавали 1 мл 0,001 М KCl , дистильовану воду до 25 мл і доводили рН до 5,8 за допомогою уротропіну та HCl за постійного перемішування. Оптичну густину обчислювали при $\lambda = 580$ нм у кюветі з $l = 2$ см відносно води через 5 хв після змішування розчинів.

Спектри світлопоглинання розчинів знімали на спектрофотометрі СФ-46. Світлопоглинання вимірювали на КФК-3 за оптимальної довжини хвилі відносно води. Кислотність контролювали іономіром И-160 зі скляним електродом.

Повторюваність дослідів — п'ятикратна, результати експериментів оброблено методами математичної статистики з використанням Microsoft Excel [37]. У таблицях подано середні арифметичні та їх стандартні похибки, достовірними вважали дані за $P < 0,05$.

Результати та обговорення

Встановлено, що всі досліджені субстрати здатні забезпечувати ріст *P. ostreatus*, однак ступінь засвоєння грибом того чи іншого субстрату (за показником накопичення біомаси) був різний: від $7,5 \pm 0,7$ г/л до $24,1 \pm 0,4$ г/л (рис. 1). Виявлено 9 субстратів, на яких ріст біомаси *P. ostreatus* був краший, ніж на контрольному середовищі ГПД. Слід зазначити, що можливість використання шротів насіння вівса, розторопші, льону, гарбуза, гірчиці, плодів шипшини, зародків пшениці, шроту насіння амаранту після CO_2 -екстракції, макухи з насіння рапсу та волоського горіха як субстратів для поверхневого (на рідкому середовищі) культивування гливи було досліджено вперше.

Результати дослідження накопичення біомаси гриба та високі показники біологіч-

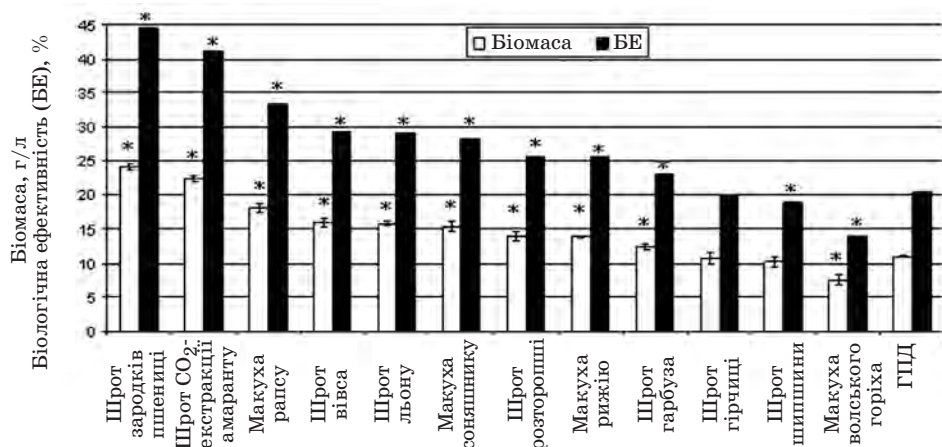


Рис. 1. Ріст *P. ostreatus* на різних субстратах та біологічна ефективність їх використання (* — $P < 0,05$ порівняно з контролем — середовищем ГПД)

ної ефективності конверсії субстратів дають підстави рекомендувати для його культивування нові перспективні субстрати — шрот зародків пшениці, амаранту (після CO_2 -екстракції), макуху рапсу. Одержані показники утворення біомаси *P. ostreatus* на досліджених нами субстратах значно вищі за такі для інших субстратів [5, 6, 8, 10, 11–14, 16, 18–20], за винятком досліджень Gern et al. [7] і Vamanu E. [17]. Papaspyridi et al. [15] одержали подібні показники, але за оптимальних умов глибинного культивування *P. ostreatus* ATHUM 4438 на середовищі з ксилосою та кукурудзяним екстрактом.

Для живильного середовища культивування *P. ostreatus* встановлено оптимальний вміст відходів (рис. 2): 70 г/л (шрот зародків пшениці та амаранту), 60 г/л (макуха рапсу). Ці концентрації субстратів використовували для напрацювання біомаси *P. ostreatus* для подальших досліджень

Одним із визначальних показників, що зумовлює харчову цінність грибів, є вміст амінокислот. За результатами наших досліджень виявлено, що субстрат не впливав на якісний склад амінокислот у гідролізаті біомаси *P. ostreatus*. Їх виявилось 17 для кожного із трьох вибраних субстратів (табл. 1). Сумарна кількість амінокислот досить суттєво різнилася залежно від субстрату, але співвідношення сумарного відсоткового вмісту незамінних амінокислот і вмісту замінних у біомасі гриба, отриманій на шроті зародків пшениці та макусі рапсу, збігалось і було дещо більшим, ніж у біомасі гриба, одержаній зі шроту амаранту (табл.1). Загальним для всіх зразків біомаси було переважання серед замінних амінокислот глютамінової та аспарагінової кислот, аргініну, серед незамінних — лейцину, лізину та цистину. Ветрова та ін. [18] виявили, що в умовах глибинного культивування на інших середовищах досліджуваний нами штам *P. ostreatus*

також мав високий відсоток глютамінової й аспарагінової кислот і, водночас, значний рівень триптофану й валіну. Гібриди *P. ostreatus* Д.30-41 та Д.22-41 у цьому самому дослідженні відзначались домінуванням глютамінової кислоти, гістидину та треоніну. Нами отримано дані, аналогічні результатам щодо вмісту незамінних амінокислот у біомасі штамів *P. ostreatus* 109 і 1300. Для цих культур було характерним домінування лізину і значний вміст валіну, лейцину та фенілаланіну [3]. У біомасі *P. ostreatus* 470 краще представлено глютамінову кислоту, гістидин, пролін (замінні амінокислоти), лізин, треонін та лейцин (незамінні амінокислоти) [4]. Високий вміст лейцину і валіну ідентифіковано в біомасі *P. ostreatus* 05/88 [9].

Важливими компонентами клітинної стінки грибів є структурні полісахариди і хітин. Було встановлено наявність полісахаридів у біомасі *P. ostreatus*, отриманій на різних субстратах. Вміст ендopolісахаридів у біомасі гриба та екзopolісахаридів у культуральній рідині, залежно від обраних субстратів, дещо різнився (табл. 2), що збігалось з результатами аналогічного дослідження Mshandete і Mgonja [11]. Одержані нами показники вмісту полісахаридів *P. ostreatus* відповідають даним Adebayo-Tayo et al. [13] і Scherba et al. [4] щодо кількості екзopolісахаридів, однак вищі порівняно з більшістю результатів, наведених у [5, 6, 11, 12, 14–16, 19, 21], і поступаються штамам *P. ostreatus* PB281009 [17] та *P. ostreatus* DSM 1833 [7].

Однією з особливостей грибів, яка зумовлює їх використання у разі отруень, є здатність сорбувати важкі метали за рахунок хітин-глюканових комплексів. Наступним етапом роботи було оцінювання сорбційної здатності біомаси *P. ostreatus* щодо Pb^{2+} , Hg^{2+} , Cd^{2+} залежно від субстрату культивування. У досліджених зразках грибів виявлено відмінності за загальним рівнем накопичення і вмістом іонів Pb^{2+} , Cd^{2+} , Hg^{2+} (табл. 3).

Спільним для всіх досліджених зразків гливи є максимальна зв'язувальна активність щодо Cd^{2+} незалежно від субстрату. Найвищу здатність сорбувати цей метал встановлено для біомаси *P. ostreatus*, отриманої на шроті амаранту. Встановлено, що субстрат культивування впливає на сорбційну активність міцелію гливи, хоча в деяких випадках показник сорбційної активності збігався (табл. 3).

Сорбція важких металів біомасою *P. ostreatus* збільшувалась у ряду $\text{Hg}^{2+} < \text{Pb}^{2+} < \text{Cd}^{2+}$. Аналогічну закономірність зв'язування кадмію та свинцю виявлено для глибинного міцелію *P. ostreatus*, *Ganoderma lucidum*

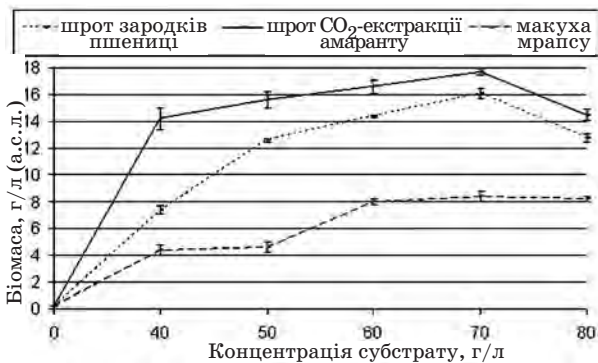


Рис. 2. Вплив концентрації субстрату на утворення біомаси *P. ostreatus*

Таблиця 1. Амінокислотний склад біомаси *P. ostreatus* на різних субстратах, мг/100 мг

Амінокислота	Шрот зародків пшениці	Шрот амаранту після CO ₂ -екстракції — контроль	Макуха рапсу
Лізин*	1,8±0,3*	0,8±0,3	2,5±0,2*
Гістидин	0,9±0,0*	0,4±0,0	1,4±0,4*
Аргінін	2,4±0,4*	1,4±0,2	3,2±0,3*
Аспарагінова кислота	2,2±0,1*	1,4±0,4	2,1±0,2*
Треонін*	1,3±0,2*	0,7±0,0	1,7±0,5*
Серин	1,4±0,2*	0,9±0,3	1,7±0,3*
Глутамінова кислота	3,8±0,5*	2,5±0,5	4,9±0,6*
Пролін	0,9±0,1*	0,6±0,2	1,9±0,5*
Гліцин	1,1±0,1	0,7±0,3	1,4±0,3*
Аланін	1,5±0,2*	0,9±0,1	1,8±0,2*
Цистин*	1,2±0,3	0,9±0,2	1,6±0,4*
Валін*	1,0±0,3	0,7±0,1	1,2±0,4*
Ізолейцин*	0,8±0,2	0,6±0,1	1,0±0,1*
Лейцин*	1,4±0,1*	0,8±0,3	1,9±0,1*
Тирозин*	0,8±0,0*	0,4±0,0	0,9±0,2*
Фенілаланін*	1,0±0,1*	0,5±0,1	1,2±0,3*
Метіонін*	0,8±0,2*	0,4±0,0	1,0±0,0*
Сума	24,3	14,6	31,4
Сума незамінних амінокислот	10,1	5,8	13,0
Сума замінних амінокислот	14,2	8,8	18,4
Співвідношення незамінних і замінних амінокислот	0,71	0,66	0,71

Примітка. Тут і далі: $M \pm m$, $n = 5$; * — незамінні амінокислоти, $P < 0,05$ порівняно з контролем.

 Таблиця 2. Вміст ендополісахаридів у біомасі та екзополісахаридів у культуральній рідині під час вирощування *P. ostreatus* на різних субстратах

Полісахариди	Шрот зародків пшениці	Шрот амаранту після CO ₂ -екстракції	Макуха рапсу — контроль
Ендополісахариди, %	4,2±0,3*	3,5±0,1	3,5±0,3
Екзополісахариди, г/л	3,0 ±0,1*	3,3±0,5*	2,2±0,4

і *Trametes hirsute* [38]. Сорбійна активність іонів ртуті та свинцю щодо біомаси *P. ostreatus* була близькою до такої для міцелію іншого їстівного гриба — *Agaricus crosporus* [39] та вищою за показники для міцелію делікатесного виду *Volvariella volvaceae* [40].

Таким чином, дані про інтенсивність накопичення біомаси *P. ostreatus* (18–24,1 г/л) та високий рівень конверсії субстратів (33,3–44,6%) на основі відходів агропромислового комплексу, характерних для України: шроту зародків пшениці, шроту насіння амаранту після CO₂-екстракції та макухи рапсу, свідчать про можливість та доціль-

ність використання цих субстратів для культивування *P. ostreatus*. Окрім ефективного застосування біоресурсів шляхом безвідходної переробки рослинної сировини, така утилізація відходів сприятиме вирішенню й екологічної проблеми. Низька вартість або безкоштовність відходів агропромислового комплексу у разі їх застосування як моносубстрату, основи або додаткового компонента субстрату може зменшити собівартість отримання біомаси *P. ostreatus*.

Встановлено оптимальний вміст агропромислових відходів у живильному середовищі: 70 г на 1 л дистильованої води для шротів зародків пшениці та амаранту, 60 г/л — ма-

Таблиця 3. Сорбційна активність *P. ostreatus* щодо важких металів, мг/1 г

Досліджуваний зразок	Pb (II)	Cd (II)	Hg (II) — контроль
Біомаса <i>P. ostreatus</i> на шроті зародків пшениці	40,0 ± 0,3	66,5 ± 0,4	35,5 ± 0,1
Біомаса <i>P. ostreatus</i> на шроті амаранту після CO ₂ -екстракції	32,9 ± 0,2	71,0 ± 0,5	20,5 ± 0,2
Біомаса <i>P. ostreatus</i> на макусі рапсу	39,6 ± 0,3	66,0 ± 0,2	20,5 ± 0,4

кухи рапсу. Досліджено вплив субстрату на амінокислотний склад, вміст полісахаридів та сорбційну активність біомаси *P. ostreatus* щодо важких металів Pb²⁺, Cd²⁺, Hg²⁺. У гідролізаті біомаси гриба виявлено 17 амінокислот, із них 9 незамінних. Встановлено значний вплив субстратів культивування на кількісний склад амінокислот. Вміст ендopolісахаридів у біомасі гриба та екзopolісахаридів у культуральній рідині, залежно від обраних субстратів, дещо різнився. Цінність біомаси, як джерела важливих неза-

мінних амінокислот та ендopolісахаридів, є основою для можливості її використання як інгредієнта в складі функціональних продуктів харчування або харчових продуктів спеціального дієтичного призначення з метою підвищення їхньої харчової цінності. Результати дослідження сорбційної здатності сухої біомаси *P. ostreatus* засвідчили, що вона має властивості ентеросорбенту, які додають вищезазначеним харчовим продуктам властивості виводити з організму людини важкі метали.

REFERENCES

1. Barshteyn V. Yu. New functional purpose confectionery with herbal supplements. *Hlebopekarskoe i konditerskoe delo*. 2008, N 4, P. 18–19. (In Russian).
2. Patel Y., Naraian R., Singh V. K. Medicinal properties of (Oyster mushroom): a review. *World J. Fungal. Plant. Biol.* 2012, 3(1), 1–12. doi: 10.5829/idosi.wjfpb.2012.3.1.303.
3. Solomko E. F. Higher edible Basidiomycete oyster mushroom *Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr.) Kumm. as a producer of edible biomass (biomedical aspect) *Kyiv: Institut botaniky im. N. G. Kholodnoho*. 1988, 54 p. (In Russian).
4. Scherba V. V., Babitskay V. G., Truchonov V. V., Fomina V. I., Bisko N. A., Mitropolskaya N. Yu. The influence of the cultivation conditions on the chemical composition of medicinal mushrooms *Pleurotus ostreatus* (Jacq.: Fr.) Kumm. and *Lentinus edodes* (Berk) Sing. *Intern. J. Med. Mushr.* 1999, 1(2), 181–185.
5. Kim S. W., Hwang H. J., Park J. P., Cho Y. J., Song C. H., Yun J. W. Mycelial growth and exopolysaccharide production by submerged culture of various edible mushrooms under different media. *Let. Appl. Microbiol.* 2002, 34(1), 56–61.
6. Elisashvili V., Tan K.-K., Chichua D., Karchlishvili E. Extracellular polysaccharide production by culinary-medicinal Shiitake mushroom *Lentinus edodes* (Berk.) Singer and *Pleurotus* (Fr.) P. Karst. species depending on carbon and nitrogen source. *Intern. J. Med. Mushr.* 2004, 6(2), 165–172. doi: 10.1615/IntJMedMushr.v6.i2.70.
7. Gern R. M. M., Wisbeck E., Kampinelli J. R., Nirow J. L., Furlan S. A. Alternative medium for production of *Pleurotus ostreatus* biomass and potential antitumor polysaccharides. *Biores. Technol.* 2008, 99(1), 76–82.
8. Tüllez-Tüllez M., Fernandez F. J., Montiel-Gonzalez A. M., Sanchez C., Diaz-Godinez G. Growth and laccase production by *Pleurotus ostreatus* in submerged and solid-state fermentation. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 2008, 81(4), 675–679. doi: 10.1007/s00253-008-1628-6.
9. Ufimseva O. V., Mironov P. V. The obtaining of biomass from the mycelia of oyster mushroom P 05/88 *Pleurotus ostreatus* and sulfur-yellow polypore LS 1-06 *Laetiporus sulphureus* in submerged condition. *Khvoynye boreal'noi zony*. 2009, 26(2), 294–296. (In Russian).
10. Lim J. S., Lee S. J., Lee E. Y. Optimal growth conditional of *Pleurotus ostreatus* cultured in the food wastes extracts. *Kor. J. Microbiol. Biotechnol.* 2009, 37(1), 85–89.
11. Mshandete A. M., Mgonja J. R. Submerged liquid fermentation of some Tanzanian Basidiomycetes for the production of mycelial biomass, exopolysaccharides and mycelium protein using wastes peels media. *ARPN J. Agric. Biol. Sci.* 2009, 4(6), P. 1–13.
12. Saskiawan I. Exopolysaccharide production and its bioactivities of the edible *Pleurotus ostreatus* in submerged culture. *Biotropia*. 2009, 16(2), 96–104.
13. Adebayo-Tayo B. C., Jonathan S. G., Egbo-muche R. C. Optimization of growth conditions for mycelial yield and exopolysaccharides production by *Pleurotus ostreatus* cultivated in Nigeria. *Afr. J. Microbiol. Res.* 2011, 5(15), 2130–2138. doi: 10.5897/AJMR11.328.
14. Elisashvili V. Submerged cultivation of medicinal mushrooms: bioprocesses and products (review). *Intern. J. Med. Mushr.* 2012, 14(3), 211–239. doi: 10.1615/IntJMedMushr.v14.i3.10.

15. Papaspyridi L.-M., Katapodis P., Gonou-Zagou Z., Kapsanaki-Gotsi E., Christakopoulos P. Optimisation of biomass production with enhanced glucan and dietary fibres content by *Pleurotus ostreatus* ATHUM 4438 under submerged culture. *Bioch. Engin. J.* 2010, 50(3), 131–138.
16. Salvador C., Martins M. R., Candeias M. F., Karmali A., Arteiro J. M., Caldeira A. T. Characterization and biological activities of protein-bound polysaccharides produced by cultures of *Pleurotus ostreatus*. *J. Agric. Sci. Technol. A* 2012, 2(11A), 1296–1306.
17. Vamanu E. Biological activities of the polysaccharides produced in submerged culture of two edible *Pleurotus ostreatus* mushrooms. *J. Biomed. Biotechnol.* 2012, V. 2012, P. 1–8. doi: 10.1155/2012/565974.
18. Vetrova O. V., Demchenko S. I., Zchuk G. O. *Pleurotus ostreatus* (Jacq.:Fr.) Kumm. hybrids — promising producers of proteins. *Priroda Zahidnogo Polissja ta pryleglykh terytorii*. 2013, N 10, P. 84–88. (In Ukrainian).
19. Maftoun P., Malek R., Abdel-Sadek M., Aziz R., Enshasy H. El. Bioprocess for semi-industrial production of immunomodulator polysaccharide pleuran by *Pleurotus ostreatus* in submerged culture. *J. Sci. Industr. Res.* 2013, V. 72, P. 655–662.
20. Petre M., Petre V. Environmental biotechnology for bioconversion of agricultural and forestry wastes into nutritive biomass. *Environmental biotechnology-new approaches and prospective applications*. Petre M. (Ed.) — Croatia: *InTech*, 2013, P. 1–22.
21. El-Enshasy H., Daba A., El-Demellawy M., Ibrahim A., Sayed S. El., Badry I. El. Bioprocess development for large scale production of anticancer exo-polysaccharide by *Pleurotus ostreatus* in submerged culture. *J. Appl. Sci.* 2010, V. 10, P. 2523–2529. doi: 10.3923/jas.2010.2523.2529.
22. Silva S., Martins S., Karmali A., Rosa E. Production, purification and characterisation of polysaccharides from *Pleurotus ostreatus* with antitumor activity. *J. Sci. Food Agric.* 2012, 92(9), 1826–1832. doi: 10.1002/jsfa.5560.
23. Sarangi I., Ghosh D., Bhutia S. K., Mallick S. K., Maiti T. K. Anti-tumor and immunomodulating effects of *Pleurotus ostreatus* mycelia-derived proteoglycans. *Intern. Immunopharmacol.* 2006, 6(8), 1287–1297.
24. Refaie F. M., Esmat A. Y., Daba A. S., Taha S. M. Characterization of polysaccharopeptides from *Pleurotus ostreatus* mycelium: assessment of toxicity and immunomodulation in vivo. *Micologia Aplicata Internacional*. 2009, 21(2), 67–75.
25. Refaie F. M., Esmat A. Y., Daba A. S., Osman W. M., Taha S. M. Hepatoprotective activity of polysaccharopeptides from *Pleurotus ostreatus* mycelium on thioacetamide — intoxicated mice. *Micologia Aplicata Internacional*. 2010, 22(1), 1–13.
26. Bonatti M., Karnopp P., Soares H. M., Furlan S. A. Evaluation of *Pleurotus ostreatus* and *Pleurotus sajor-caju* nutritional characteristics when cultivated in different lignocellulosic wastes. *Food Chem.* 2004, 88(3), 425–428.
27. Gregori A., vagelj M., Pohleven J. Cultivation techniques and medicinal properties of *Pleurotus* spp. *Food Technol. Biotechnol.* 2007, 45(3), 238–249.
28. Buchalo A. S., Mitropolskaya N. Yu., Mykhalova O. B. IBK Culture collection of mushrooms. — Kyiv: *Al'terpres*. 2011, 100 p. (In Ukrainian).
29. Kozarenko T. D. Ion exchange chromatography of amino acids. *Novosibirsk: Nauka*. 1975, 180 p. (In Russian).
30. DuBois M., Gilles K. A., Hamilton J., Rebers P. A., Smith F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Anal. Chem.* 1956, 28(3), 350–356. doi: 10.1021/ac60111a017.
31. Babitskaya V. G., Scherba V. V., Mitropolskaya N. Y., Bisko N. A. Exopolysaccharides of some medicinal mushrooms production and composition. *Intern. J. Med. Mushr.* 2000, 2(1), 51–54.
32. Poljanskij N. G. Analytical chemistry of elements. The lead. *Moscow: Nauka*. 1986, 352 p. (In Russian).
33. Gladyshev V. P., Levickaja S. A., Filippova L. M. Analytical chemistry of mercury. *Moscow: Nauka*. 1974, 224 p. (In Russian).
34. Methods of analysis of pure chemicals. *Moscow: Khimiia*. 1984, 280 p. (In Russian).
35. Kostenko E. E., Hristiansen M. G., Butenko E. N. Photometric determination of trace amounts of lead in drinking water using sulfonazo III. *Khimiia i tehnologiiia vody*. 2002, N 6, P. 324–328. (In Russian).
36. Marchenko Z. Photometric determination of elements. *Moscow: Mir*. 1971, 501 p. (In Russian).
37. Antomonov M. Yu. Mathematical processing and analysis of biomedical data. *Kyiv: FMD*. 2006, 558 p. (In Russian).
38. Roubel' N. M., Sokolova N. E., Pehtereva V. S. The role of cell wall components in Basidiomycetes binding heavy metal ions. *Sovremennoe sostojanie i perspektivy razvitiia mikrobiologii i biotehnologii: Materiali mezhdunar. nauchn. konf. Minsk: Institut mikrobiologii*, 2004. (In Russian).
39. Meglar M. J., Alonso J., Garcha M. A. Removal of toxic metals from aqueous solutions by fungal biomass of *Agaricus macrosporus*. *Sci. Tot. Environ.* 2007, 385(1–3), 12–19.
40. Purkayastha R. P., Mitra A. K. Metal uptake by mycelia during submerged growth and by sporocarps of an edible fungus *Volvariella volvacea*. *Ind. J. Exp. Biol.* 1992, 30(12), 1184–1187.

**КУЛЬТИВИРОВАНИЕ
Pleurotus ostreatus (Jacq.) Kumm.
НА РАСТИТЕЛЬНЫХ ОТХОДАХ**

Т. А. Круподорова¹, В. Ю. Барштейн¹,
Л. В. Пещук², А. И. Гащук², Е. Е. Костенко²

¹Государственное учреждение «Институт пищевой биотехнологии и геномики Национальной академии наук Украины», Киев
²Национальный университет пищевых технологий, Киев, Украина

E-mail: krupodorova@gmail.com

Целью работы было изучение влияния субстратов культивирования (отходов агропромышленного комплекса) на накопление биомассы, аминокислотный состав, содержание полисахаридов и сорбционную способность относительно тяжелых металлов полученной биомассы съедобного гриба *P. ostreatus*.

Исследована возможность поверхностного культивирования *Pleurotus ostreatus* на субстратах на основе отходов агропромышленного комплекса, характерных для Украины. Интенсивность накопления биомассы (18–24,1 г/л) и высокий уровень конверсии субстратов (33,3–44,6%) показали перспективность для культивирования новых субстратов — шротов зародышей пшеницы, амаранта (после CO₂-экстракции) и жмыха рапса. Определены оптимальные концентрации выбранных субстратов: 70 г на 1 л дистиллированной воды — для шротов зародышей пшеницы и амаранта, 60 г/л — жмыха рапса. В гидролизате биомассы гриба обнаружено 17 аминокислот, из них — 9 незаменимых. Установлено значительное влияние субстратов культивирования на количественный состав аминокислот. Общим для всех образцов биомассы было преобладание среди заменимых аминокислот глутаминовой и аспарагиновой кислот, аргинина, среди незаменимых — лейцина, лизина и цистина. Содержание эндополисахаридов в биомассе гриба и экзополисахаридов в культуральной жидкости несколько отличалось в зависимости от выбранных субстратов. Сорбция тяжелых металлов биомассой *P. ostreatus* увеличивалась в ряду Hg²⁺ < Pb²⁺ < Cd²⁺. Установлена биологическая активность биомассы как источника важных незаменимых аминокислот, эндополисахаридов, а также сорбционная способность по отношению к токсическим ионам Pb²⁺, Cd²⁺, Hg²⁺, что является основанием для ее использования в качестве ингредиента в составе функциональных продуктов питания или продуктов специального назначения с целью повышения их питательной ценности и выведения из организма человека тяжелых металлов.

Ключевые слова: *Pleurotus ostreatus*, растительные отходы, сорбция тяжелых металлов.

***Pleurotus ostreatus* (Jacq.) Kumm.
CULTIVATION ON VEGETABLE WASTES**

Т. А. Круподорова¹, В. Ю. Барштейн¹,
Л. В. Пещук², О. И. Гащук², Е. Е. Костенко²

¹Institute of Food Biotechnology and Genomics of the National Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv
²National University of Food Technologies, Kyiv, Ukraine

E-mail: krupodorova@gmail.com

The aim of this work was the study of influence of cultivation substrates (agriculture wasters) on biomass accumulation, amino acid composition, polysaccharide content and sorption ability towards heavy metals for the obtained biomass of edible mushroom *P. ostreatus*.

The intensity of *P. ostreatus* biomass accumulation (18–24,1 g/L) and high conversion of substrates (33,3–44,6%) have shown prospects for *P. ostreatus* cultivation on new substrates such as wheat germ oil meal, CO₂-extraction waste — amaranth flour and rapeseed meal. The optimum concentration of selected substrates were 70 g in 1 liter of distilled water for wheat germ oil meal and amaranth flour, 60 g/l — for rapeseed mea. It was found 17 amino acids, including 9 essential ones in fungi biomass hydrolyzate. Significant influence of cultivation substrate on quantitative composition of amino acids has been established. To all biomass samples the prevalence of glutamic and aspartic acids, arginine among the nonessential amino-acids, leucine, lysine and cystine among the essential amino-acids were common. Endopolysaccharides content in mushroom biomass and exopolysaccharides in culture liquid were slightly different depending on the selected substrates. Sorption of heavy metals by *P. ostreatus* biomass was increased in series Hg²⁺ < Pb²⁺ < Cd²⁺. High biological activity of the biomass as a source of important essential amino acids and endopolysaccharides as well as sorption capacity towards toxic ions of Pb²⁺, Cd²⁺, Hg²⁺ were determined. It could be a good purpose for usage of *P. ostreatus* biomass as an ingredient in the composition of functional food or food for special purpose to enhance both: its nutritional value and excretion of heavy metals from the human body.

Key words: *Pleurotus ostreatus*, vegetable wastes, sorption of heavy metals.