

На правах рукописи



Минаков Денис Викторович

**ВЛИЯНИЕ ЭКОЛОГО-БИОХИМИЧЕСКИХ ПАРАМЕТРОВ
БИОКОНВЕРСИИ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ НА ВЫХОД
БИОМАССЫ ПЛОДОВЫХ ТЕЛ КСИЛОТРОФНЫХ
БАЗИДИОМИЦЕТОВ**

03.02.08 – Экология (биология)

Автореферат
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Томск – 2018

Работа выполнена в федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Алтайский государственный технический университет им. И.И. Ползунова»

Научный руководитель: доктор химических наук, профессор
Верещагин Александр Леонидович

Официальные оппоненты:

Теплякова Тамара Владимировна, доктор биологических наук, профессор, Федеральное бюджетное учреждение науки «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Федеральной службы по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, лаборатория микологии, заведующий лабораторией

Вайшля Ольга Борисовна, кандидат биологических наук, доцент, федеральное государственное автономное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет», кафедра зоологии позвоночных и экологии, доцент

Ведущая организация: федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Сибирский государственный университет науки и технологий имени академика М.Ф. Решетнева»

Защита состоится 28 декабря 2018 г. в 12 час. 00 мин. на заседании диссертационного совета Д 212.267.10, созданного на базе федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет», по адресу: 634050, г. Томск, пр. Ленина, 36 (корпус НИИ ББ, конференц-зал).

С диссертацией можно ознакомиться в Научной библиотеке и на официальном сайте федерального государственного автономного образовательного учреждения высшего образования «Национальный исследовательский Томский государственный университет» www.tsu.ru

Материалы по защите диссертации размещены на официальном сайте ТГУ: <http://www.ams.tsu.ru/TSU/QualificationDep/co-searchers.nsf/newpublicationn/MinakovDV28122018.html>

Автореферат разослан «__» ноября 2018 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат биологических наук



Носков Юрий Александрович

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность исследования. Загрязнение окружающей среды, обеднение лесных угодий, массовая вырубка лесов привели к тому, что население городов России все меньше использует дикорастущие съедобные грибы для пищевых целей. Кроме того, во всем мире в условиях быстрого роста численности населения проблема дефицита и качества белковых продуктов продолжает оставаться актуальной. Традиционное сельскохозяйственное производство белка в виде продукции растениеводства, животноводства и птицеводства не справляется с потребностями современного общества в полноценном питании. По данным ФАО/ВОЗ население многих стран в различной степени нуждается в дополнительных источниках белка. Недостаток белка в питании является одним из основных факторов снижения средней продолжительности жизни и крайне необходим детям для умственного и физического развития. Известно, что пищевая промышленность нуждается в новых функциональных и профилактических продуктах питания, в том числе из грибов, которые при регулярном применении могут оказывать оздоровительное действие на организм человека.

В настоящее время мировые объемы отходов производств сельского и лесного хозяйств составляют наибольшую группу ежегодно возобновляемого растительного сырья – 2,5 и 3,2 млрд. тонн, соответственно. В Российской Федерации эти показатели составляют около 773,0 млн. тонн для сельского хозяйства и 1167,0 млн. тонн для лесных угодий. Ежегодное накопление лигноцеллюлозных отходов в Алтайском крае составляет более 10 млн. тонн, в том числе опилки древесных пород, плодовые оболочки овса, пшеничная солома, лузга подсолнечника и др., которые уходят в отвалы или сжигаются, что приводит к загрязнению окружающей среды. Возможность их использования при получении продуктов на основе отходов перечисленных выше производств, с сохранением чистоты окружающей среды является актуальной задачей для Российской Федерации.

Среди альтернативных методов получения белка и биологически активных веществ особенно перспективными являются производство мицелия и плодовых тел ксилотрофных видов грибов, в условиях регулируемого микроклимата. В этих методах особое значение придается оптимизации условий культивирования с использованием абиотических факторов и эндогенных регуляторов роста.

В России широко применяют в пищу в основном шампиньоны (*Agaricus bisporus*) и вешенки (*Pleurotus ostreatus*), технологии выращивания которых постоянно совершенствуются. В то же время во многих странах мира проводятся активные исследования по культивированию тех видов грибов, которые широко использовались в народной медицине. Однако их культивирование осложняется дефицитом сырья и проблемами биобезопасности из-за аллергического действия спор грибов.

Среди активно культивируемых грибов к числу наиболее перспективных, безусловно, относят и лекарственные виды базидиомицетов, таких как шиитаке

(*Lentinula edodes* (Berk.) Pegler) (мировое производство 700 тыс. в год) и мейтаке (*Grifola frondosa* (Dicks: Fr.) Gray) (125 тыс. тонн в год), сочетающие в себе высокую скорость роста, биологическую активность и отсутствие токсикантов, являясь сырьем для получения лекарственных препаратов. Культивирование этих видов грибов в промышленных масштабах осуществляется в основном в странах Юго-Восточной Азии, Европе и Америке на местном лигноцеллюлозном сырье (древесина бука, дуба, клена, рисовая шелуха, солома и др.). В настоящее время в России принципиальное значение приобретает культивирование опенка осеннего (*Armillaria mellea* (Vahl: Fr.) P. Kumm) в связи с его высокими органолептическими свойствами. Однако, промышленное производство опенка до настоящего времени во всем мире отсутствует.

Разработка технологичных методов производства вышеперечисленных видов грибов, с использованием лигноцеллюлозных отходов, приведет к повышению экологической и экономической целесообразности получения высококачественных продуктов для нужд пищевой, комбикормовой и фармацевтической промышленности в круглогодичном режиме.

Цель работы: Изучение влияния эколого-биохимических параметров биоконверсии растительного сырья на выход биомассы плодовых тел ксилотрофных базидиомицетов.

Задачи работы:

1. Изучить влияние витаминов и абиотических факторов на рост мицелия и плодовых тел грибов;
2. Определить кинетические и продукционные показатели накопления биомассы мицелия в поверхностных и глубинных условиях культивирования на средах регулируемого состава;
3. Разработать методы интенсивного культивирования грибов *A. mellea* D-13, *L. edodes* F-1000 и *G. frondosa* 2639 на лигноцеллюлозных отходах производств Алтайского края;
4. Выделить хитозан-глюкановые комплексы из биомассы плодовых тел грибов, проанализировать их физико-химические показатели и исследовать сорбционную способность по отношению к ионам тяжелых металлов;
5. Изучить химический состав биомассы мицелия, плодовых тел, мицелиально-субстратных комплексов грибов и исследовать возможность их применения в качестве продуктов питания и кормовых добавок для сельскохозяйственной птицы;
6. Определить экономическую эффективность организации нового производства плодовых тел грибов.

Научная новизна исследования. Впервые выявлены эколого-биохимические параметры роста и развития грибов *A. mellea* D-13, *L. edodes* F-1000 и *G. frondosa* 2639 и разработаны методы их интенсивного культивирования на лигноцеллюлозных отходах с использованием регуляторов роста.

На основании анализа химического состава установлено, что белки и липиды мицелия и плодовых тел грибов характеризуются высокой

биологической ценностью, а отработанные субстраты показывают перспективность создания экологических производств в сельском хозяйстве.

Впервые исследованы физико-химические показатели хитозан-глиукановых комплексов, выделенных из плодовых тел грибов и изучены закономерности сорбционного концентрирования ионов тяжелых металлов в зависимости от кислотности среды и природы кислоты.

Новизна технических решений подтверждается двумя патентами на изобретение (Патент РФ №2586483 «Питательная среда для глубинного культивирования мицелия *Armillaria mellea*», патент РФ №2595737 «Субстрат для выращивания грибов *Grifola frondosa*»).

Теоретическая и практическая значимость работы.

Полученные результаты дополняют имеющиеся знания об условиях культивирования грибов-ксилотрофов и методах интенсификации их роста, выделения из мицелия и плодовых тел биологически активных веществ, нашедших применение в медицине, биологии и сельском хозяйстве.

Разработанные методы интенсивного культивирования грибов *A. mellea* D-13, *L. edodes* F-1000 и *G. frondosa* 2639 с использованием лигноцеллюлозных отходов растительного сырья Алтайского края: опилки березы (*Betula pendula*), шелуха овса (*Avena sativa*), лузга подсолнечника (*Helianthus annuus*), солома и отруби пшеницы (*Triticum aestivum*), ветки облепихи (*Hippophae rhamnoides*), пивная дробина, позволяют определить эколого-биохимические параметры роста этих видов грибов и вносят вклад в развитие современных биотехнологий.

Определены физико-химические показатели хитозан-глиукановых комплексов, выделенных из плодовых тел грибов, которые соответствуют показателям пищевого хитозана (ТУ 9289-067-00472124). Полученные данные по сорбционной способности могут использоваться для разработки методик извлечения ионов Co^{2+} и Fe^{3+} из объектов сложного состава.

Культивируемые грибы, хитозан-глиукановые комплексы и отработанные субстраты перспективны для применения в пищевой, фармацевтической и комбикормовой отраслях, что представляет собой не только экономическую, но и экологическую значимость.

Методы интенсивного культивирования грибов *L. edodes* F-1000 и *G. frondosa* 2639 апробированы на ООО «Биотехнологии переработки облепихи» и рекомендованы для применения, как на предприятиях малого бизнеса, так и в личных подсобных хозяйствах.

Материалы диссертационного исследования используются в учебном процессе Бийского технологического института (филиала) Алтайского государственного технического университета им. И.И. Ползунова при проведении лабораторных работ по дисциплине «Промышленная биотехнология» для студентов, обучающихся на 2-4 курсах по направлению подготовки 19.03.01 Биотехнология (профиль Биотехнология) и 19.04.01 Биотехнология (магистерская программа «Химия и технология биологически активных веществ»).

Методология и методы диссертационного исследования.

Методологической основой диссертации являются труды отечественных и зарубежных исследователей – работы по культивированию высших грибов, изучению влияния абиотических и биотических факторов на рост и развитие грибов, выделению из грибов биологически активных соединений и изучению их физико-химических свойств, изучению биохимического состава грибов, а также работы по практическому применению грибов в различных отраслях народного хозяйства. Работа выполнялась с использованием современных микробиологических, микологических, химических и физико-химических методов анализа (высокоэффективная жидкостная хроматография, рентгенофлуоресцентная спектроскопия, инфракрасная спектроскопия), приборов и оборудования.

Степень разработанности темы. Большой теоретический и практический вклад в развитие технологий интенсивного культивирования высших базидиальных грибов, изучение их биохимического состава и выделение из грибов биологически активных соединений сделан отечественными и зарубежными исследователями, такими как: В.И. Билай, А.С. Бухало, С.П. Вассер, И.А. Дудка, А.С. Бондарцева, И.Э. Цапалова, Н.В. Сабуров, Ю.Т. Жук, А.А. Ячевский, Р.Е. Stamets, Q.Y. Yang, Y. Li, R. Singer.

Однако до сих пор исследования, посвященные поискам и разработкам технологий интенсивного культивирования съедобных и лекарственных видов грибов, следует считать крайне актуальными и своевременными. Остается важным расширение ассортимента культивируемых грибов в Российской Федерации.

В связи с этим разработка высокотехнологичных и экологичных методов производства высших базидиомицетов с использованием лигноцеллюлозных отходов открывает перспективы для реализации их природного потенциала при получении продуктов для пищевой, фармацевтической и сельскохозяйственной промышленности.

Степень достоверности результатов исследований. Достоверность результатов диссертационного исследования обеспечивается применением современных микробиологических, микологических, химических и физико-химических методов анализа, выполненных на оборудовании с высоким классом точности и воспроизводимостью результатов.

Экспериментальные данные, выводы и рекомендации основаны на общепринятых теоретических закономерностях, не противоречат и согласуются с известными концепциями, апробированы и подтверждены в промышленных условиях.

Исследования проводились в четырехкратной повторности. Статистическую обработку экспериментальных данных осуществляли с использованием компьютерных программ Excel Microsoft Office, Statistica 8.0.

Внедрение результатов исследований. Методы интенсивного культивирования грибов *L. edodes* F-1000 и *G. frondosa* 2639 подтверждены актами внедрения, утвержденными директором ФГБОУ ВО Бийского технологического института (филиал) «Алтайский государственный

технический университет им. И.И. Ползунова» и директором ООО «Биотехнологии переработки облепихи».

Положения, выносимые на защиту.

На защиту выносятся следующие результаты исследования:

1. Разработаны методы интенсивного культивирования грибов-ксилотрофов *A. mellea* D-13, *L. edodes* F-1000 и *G. frondosa* 2639 на отходах деревоперерабатывающей промышленности и сельскохозяйственного производства, позволяющие осуществлять экологически значимое и экономически эффективное производство продуктов питания и кормовых добавок.

2. Определены физико-химические показатели хитозан-глюкановых комплексов, выделенных из грибов, которые соответствуют свойствам пищевого хитозана (ТУ 9289-067-00472124). Установлены закономерности влияния кислотности среды и природы кислоты на сорбционную способность хитозан-глюкановых комплексов по отношению к ионам Co^{2+} и Fe^{3+} .

3. Изучен химический состав биомассы мицелия, плодовых тел и отработанных субстратов, обосновывающий их высокую пищевую и биологическую ценности. Показана возможность использования мицелия и плодовых тел грибов для обогащения белком и биологически активными веществами различных функциональных пищевых продуктов, а отработанных субстратов для получения кормовых добавок.

Личный вклад автора. Анализ научной литературы, формулировка цели и задач исследования проводились совместно с научным руководителем. Постановка проблемы, разработка основных положений диссертации, планирование экспериментов, выполнение исследований и обобщение их результатов выполнены автором самостоятельно.

Апробация работы. Основные положения и результаты диссертационной работы докладывались и обсуждались на XIII международной научно-практической конференции «Пища. Экология. Качество» (Красноярск, 2016), международной конференции «Ломоносовские чтения на Алтае: фундаментальные проблемы науки и образования» (Барнаул, 2017), X и XI Всероссийских научно-практических конференциях студентов, аспирантов и молодых ученых с международным участием «Технологии и оборудование химической, биотехнологической и пищевой промышленности» (Бийск, 2017, 2018).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 13 научных работ, в том числе 4 статьи в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук (из них 2 статьи в журнале, входящем в Agris), 1 статья в научном журнале, 6 статей в сборниках материалов международных и всероссийских с международным участием научных и научно-практических конференций; получено 2 патента.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, четырех глав, заключения, списка сокращений и условных обозначений, списка литературы и четырех приложений. Работа изложена на 156 страницах

машинописного текста, содержит 43 таблицы (из них 3 таблицы в приложениях) и 43 рисунка (из них 2 рисунка в приложениях). Список литературы включает 200 библиографических ссылок (из них 62 на английском языке).

ГЛАВА 1 ОБЗОР ЛИТЕРАТУРЫ

В главе приведены сведения об использовании базидиальных грибов в технологиях переработки и утилизации лигноцеллюлозных отходов. Представлены данные по методам культивирования высших базидиальных грибов на отходах лесного и сельского хозяйств. Представлен анализ опубликованных работ по таксонометрии, морфологии и биологически активным соединениям ценных видов грибов-ксилотрофов *A. mellea*, *L. edodes* и *G. frondosa*. Показано влияние абиотических факторов и витаминов на рост и развитие грибов.

ГЛАВА 2 ОБЪЕКТЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЙ

Исследования проводили в соответствии со следующей схемой (рис. 1).

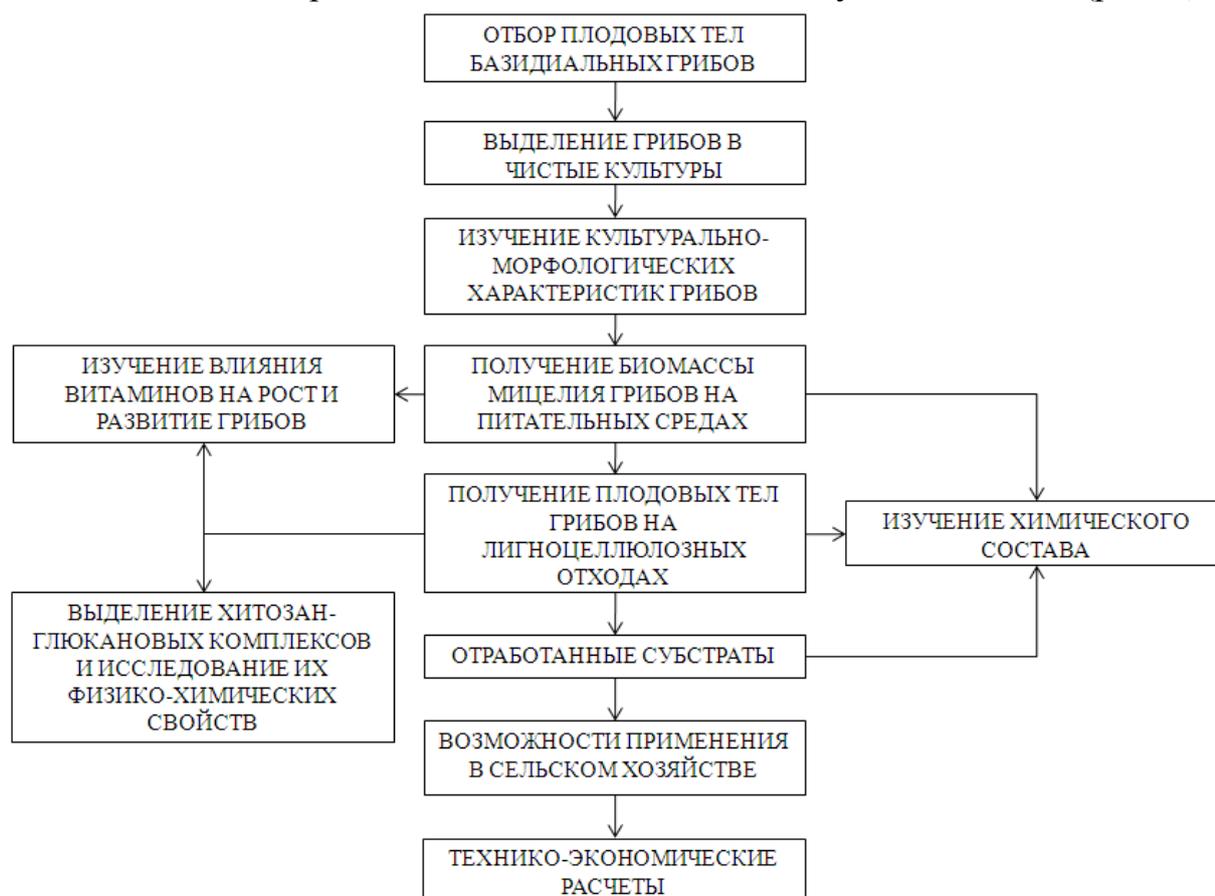


Рисунок 1 – Схема исследований

В качестве объектов исследования использованы: штаммы грибов *L. edodes* F-1000 и *G. frondosa* 2639 выделенные из коммерческого мицелия и штамм *A. mellea* D-13 выделенный из плодовых тел, собранных с пней березы

повислой (*Betula pendula*) в естественных местообитаниях Алтайского края. Идентификация *A. mellea* осуществлялась по определителю грибов (Юдин А.В., 2001). Выделение *A. mellea* в чистую культуру проводилось из тканей свежесобранных грибов по методике, описанной А.С. Бухало (1988).

Выращивание культур грибов осуществляли методом поверхностного культивирования на сусло-агаре (СА). Хранили культуры при температуре $4 \pm 1^\circ\text{C}$.

Изучение влияния температуры на рост мицелия на различных агаризованных средах проводили определением среднесуточной скорости роста и ростового коэффициента по методу А.С. Бухало (1988); определение кислотности среды – потенциометрическим методом. Влияние влажности субстрата на рост мицелия проводили весовым методом; влияние влажности воздуха на формирование примордиев и образование плодовых тел при помощи датчика «ДВТ-02» в камере роста.

Морфология и микроморфология мицелия изучалась по общепринятым методам микологических исследований на сусло агаровой среде.

Получение посевного мицелия проводили методом глубинного культивирования с использованием термостатируемого шейкера (BioSan ES-20) на различных по составу средах, г/л:

1. Глюкоза – 10,0; пептон – 5,0; KH_2PO_4 – 3,0; $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 1,0.

2. Молочная сыворотка / дистиллированная вода (1:1), $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ – 0,6; $\text{MgSO}_4 \times 7\text{H}_2\text{O}$ – 0,5; NaNO_3 – 3,0.

3. Свекловичная меласса – 40,0; NH_4NO_3 – 3,0; KH_2PO_4 – 1,2.

Процесс роста мицелия контролировали по интенсивности потребления сахаров в среде. Накопление биомассы прекращали при снижении концентрации редуцирующих веществ менее 0,4 %.

Для изучения влияния витаминов на рост мицелия культур грибов использовали: рибофлавин, тиамин, никотиновую кислоту, витамин С, п-аминобензойную кислоту, мезо-инозит, витамин А, биотин и их смесь с концентрациями в среде 0,15; 0,20; 0,40; 0,60 и 0,80 мг/мл.

С целью подбора оптимального состава субстрата для культивирования грибов были испытаны такие компоненты как березовые опилки, дробленые ветки облепихи, пшеничные отруби и солома, пивная дробина, лузга подсолнечника и шелуха овса. Основные исследования выполнены на следующих образцах субстратов:

1. Березовые опилки (контроль);

2. Березовые опилки / пшеничные отруби (3:1);

3. Березовые опилки / пивная дробина (3:1).

Схема интенсивного культивирования включает следующие этапы: выбор растительного сырья, увлажнение, термообработка, инокуляция, инкубация, плодоношение, сбор плодовых тел грибов.

Термическую обработку субстратов осуществляли в автоклаве (ВК-70).

Выход рассчитывали как отношение массы свежих плодовых тел к массе субстрата (%).

Для определения основных показателей биохимического состава объектов применялись стандартные химические и физико-химические методы анализа: ГОСТ 13586.5-93, ГОСТ 27494-87, ГОСТ 13192-73, а также методы, описанные в отраслевой и научно-технической литературе. Содержание белка определяли по методу Кьельдаля; качественный состав аминокислот – методом ионообменной хроматографии на аминокислотном анализаторе Aracus (производство PMA GmbH, Германия); количество легко- и трудногидролизуемых полисахаридов – по методу Кизеля и Семигановского; определение липидов – по методу Блайя и Дайера; определение массовой доли жирных кислот и витаминов – методом ВЭЖХ (Shimadzu LC-20 Prominence); минеральный состав золы изучали методом рентгено-флуоресцентной спектроскопии на приборе «Спектроскан»; определение количества экстрактивных веществ – методом исчерпывающей экстракции; содержание лигнина – по методу Комарова; целлюлозы – по методу М. Кюршнера и Н. Ганека; индекс микогенного ксилолиза вычисляли по В.А. Соловьеву (1980).

Выделение хитозан-глюкановых комплексов (ХтГК) из плодовых тел грибов проводили по United States Patent 4282351 (Riccardo Muzzarelli, Chitosan-glucan complex, method for its production and end uses). Среднюю молекулярную массу и характеристическую вязкость ХтГК определяли методом вискозиметрии; степень деацетилирования и сорбцию тяжелых металлов (Co^{2+} , Fe^{3+}) – потенциометрическим титрованием. Идентификацию ХтГК – ИК-спектроскопией (Shimadzu FTIR 8300).

Исследования проводились в четырехкратной повторности. Статистическую обработку экспериментальных данных осуществляли с использованием компьютерных программ Excel Microsoft Office, Statistica 8.0.

ГЛАВА 3 РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЙ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Влияние абиотических факторов на рост и развитие грибов

Приведены результаты по изучению влияния абиотических факторов (температуры, кислотности, влажности и освещенности) на рост мицелия грибов. С учетом скорости роста и ростового коэффициента установлена оптимальная температура для развития мицелия *A. mellea* D-13, *L. edodes* F-1000 – 26 ± 1 °С и *G. frondosa* 2639 – 28 ± 1 °С. Наиболее благоприятным для роста мицелия следует считать рН 5,8–6,0. Оптимальная влажность субстрата для роста мицелия – 65 ± 5 %, относительная влажность воздуха для формирования примордиев и образования плодовых тел – 85–90 %. Установлено, что штамм *G. frondosa* 2639 в период плодообразования менее требователен к свету, чем *A. mellea* D-13 и *L. edodes* F-1000. Для формирования примордиев и образования шляпок плодовых тел этих видов грибов необходима освещенность в пределах 200–250 люкс и стационарная специфическая атмосфера с определенной концентрацией CO_2 и других летучих газов.

Оптимизация режимов культивирования грибов

Схема интенсивного культивирования грибов представлена на рисунке 2.

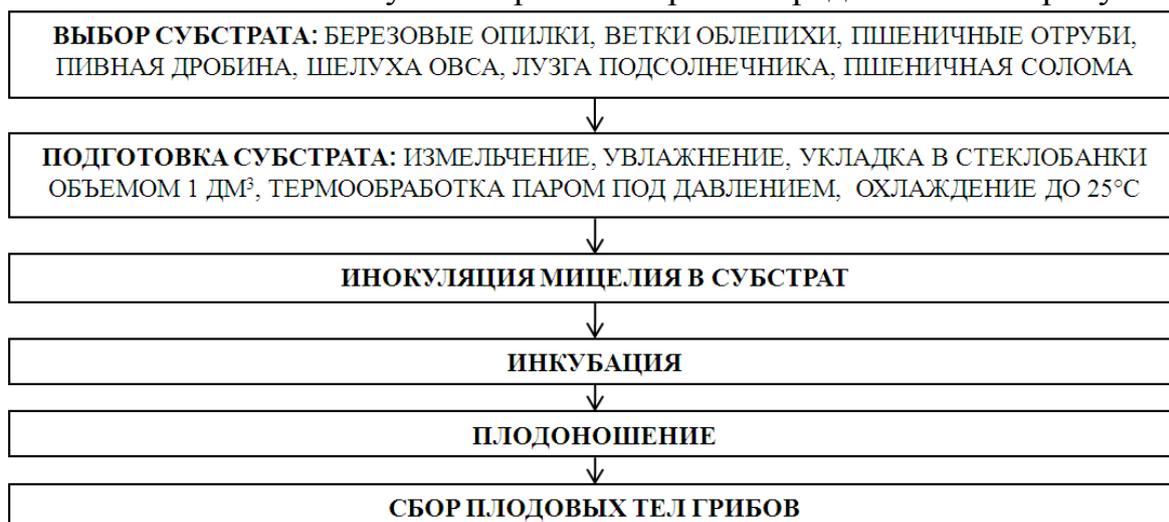


Рисунок 2 – Схема интенсивного культивирования грибов

Выбор субстрата растительного происхождения, благоприятного для роста мицелия грибов проводили по оценке способности расти на отходах деревоперерабатывающей и пивоваренной промышленности, сельскохозяйственного производства и садоводства (табл. 1).

Таблица 1 – Среднесуточная скорость роста мицелия грибов на субстратах

№	Образец субстрата	Среднесуточная скорость роста, мм/сут.		
		<i>A. mellea</i>	<i>L. edodes</i>	<i>G. frondosa</i>
1	Березовые опилки (контроль)	3,60±0,18	4,44±0,21	5,71±0,21
2	Березовые опилки / пшеничные отруби (3:1)	5,00±0,20	5,71±0,20	8,00±0,20
3	Березовы опилки / пивная дробина (3:1)	4,40±0,19	5,00±0,18	6,66±0,22
4	Березовые опилки / шелуха овса (3:1)	4,00±0,17	4,00±0,19	5,00±0,17
5	Дробленые ветки облепихи	–	2,69±0,22	5,00±0,18
6	Дробленые ветки облепихи / пшеничные отруби (3:1)	–	3,63±0,21	6,66±0,19
7	Шелуха овса	–	1,50±0,20	3,63±0,23
8	Пшеничная солома	–	1,45±0,19	3,07±0,22
9	Лузга подсолнечника	–	–	1,80±0,20

В результате проведенных исследований были отобраны три варианта субстрата для интенсивного культивирования грибов: березовые опилки, березовые опилки/пшеничные отруби (3:1), березовые опилки/пивная дробина (3:1). Субстраты обрабатывали при 0,15 МПа/90 мин, что обеспечивало необходимую стерильность.

В качестве исследуемых жидких питательных сред для получения посевного мицелия были предложены следующие образцы: глюкозо-пептонная (ГП) среда (контроль); среда с молочной сывороткой; среда со свекловичной мелассой.

Отмечено, что при жидкофазном культивировании на ГП среде выход биомассы мицелия у *A. mellea* D-13 в поверхностных условиях был в 3,2 раза выше, чем в глубинных, хотя при этом следует учесть длительный период культивирования. Противоположный эффект оказали глубинные условия на штаммы *L. edodes* F-1000 и *G. frondosa* 2639, биомасса мицелия которых, была в 1,2 и 2,0 раза выше, соответственно, чем в поверхностных условиях. В связи с тем, что процесс накопления биомассы мицелия *A. mellea* D-13 в поверхностных условиях культивирования занимает много времени (28 суток), дальнейшее его исследование было проведено в глубинных условиях. Далее мы исследовали рост мицелия на экономически целесообразных средах, в том числе свекловичной мелассе и молочной сыворотке (табл. 2).

Таблица 2 – Биомасса мицелия грибов в поверхностных и глубинных условиях на средах различного состава

Культура гриба	Условия культивирования	Время культивирования, сутки	Выход сухой биомассы, г/л		
			ГП среда (контроль)	Среда с молочной сывороткой	Среда со свекловичной мелассой
<i>A. mellea</i>	I	14	5,10±0,18	8,20±0,20	14,60±0,16
	II	28	16,48±0,19	–	–
<i>L. edodes</i>	I	12	8,00±0,16	10,00±0,21	16,80±0,19
	II	10	6,50±0,19	–	–
<i>G. frondosa</i>	I	10	14,80±0,18	14,50±0,23	19,40±0,18
	II	10	7,28±0,17	–	–

Примечание: Условия культивирования I – глубинные, II – поверхностные

Анализ полученных данных показал, что наиболее благоприятной средой для роста мицелия *A. mellea* D-13, *L. edodes* F-1000 и *G. frondosa* 2639 в глубинных условиях является среда со свекловичной мелассой, дающая выход, превышающий контроль в 2,86; 2,10 и 1,31 раза, соответственно. На среде с молочной сывороткой наблюдалось увеличение биомассы мицелия *A. mellea* D-13 и *L. edodes* F-1000 относительно контроля в 1,60 и 1,25 раза, соответственно. В то время как биомасса мицелия *G. frondosa* 2639 на ГП среде и среде с молочной сывороткой мало отличалась.

Изучение влияния водорастворимых витаминов на рост мицелия в глубинных условиях культивирования

Наблюдения за ростом культур на среде с мелассой в присутствии витаминов позволили получить следующие результаты, представленные в таблице 3.

Таблица 3 – Влияние витаминов на выход биомассы мицелия грибов

№	Питательная среда	Содержание сухой биомассы, г/л			% к контролю по биомассе мицелия		
		<i>A. mellea</i>	<i>L. edodes</i>	<i>G. frondosa</i>			
1	среда с мелассой	14,60	16,80	19,40	100	100	100
2	рибофлавин	15,60	21,21	21,36	106,9	126,3	110,1
3	тиамин	14,84	22,26	23,03	101,7	132,5	118,7
4	никотиновая кислота	13,82	13,02	18,85	94,7	77,5	97,1
5	витамин С	12,45	14,46	22,88	85,3	86,7	117,9
6	п-аминобензойная кислота	12,83	13,72	19,18	87,8	81,6	98,8
7	биотин	14,52	17,56	19,35	99,4	104,5	99,7
9	мезо-инозит	12,62	14,62	18,70	86,4	87,0	96,3
10	витамин А	14,93	14,78	19,20	102,2	87,9	98,9
11	смесь витаминов	13,93	12,76	18,58	95,4	75,9	95,7

Примечание: относительная погрешность для биомассы мицелия $\pm 0,20-0,50$ %

Сравнивая данные, полученные на контрольной и витаминизированных средах, было установлено, что рибофлавин и тиамин оказывают стимулирующее действие на интенсификацию ростовых процессов у мицелия испытуемых грибов. При использовании оптимальной концентрации этих витаминов (0,20 мг/мл) достигалось увеличение биомассы мицелия *L. edodes* F-1000 в 1,26–1,32 раза. Показано, что добавление в среду с мелассой смеси витаминов, стимулирующий эффект рибофлавина и тиамина по накоплению биомассы мицелия *L. edodes* F-1000 и *G. frondosa* 2639 был ниже в 1,66–1,74 и 1,14–1,24 раза, соответственно, чем с каждым отдельным витамином. Мезо-инозит, никотиновая и п-аминобензойная кислоты не оказали существенного влияния на рост грибов. Посевной мицелий вносили в количестве 6 % от массы субстрата.

Изучение влияния состава субстратов на выход плодовых тел грибов

Показано, что образование плодовых тел и их выход определяется качественным составом субстратов (табл. 4).

Таблица 4 – Скорость формирования плодовых тел грибов и их выход в зависимости от состава субстрата

№	Образец субстрата	Культура гриба	Образование плодовых тел, сутки	Выход, %	% от контроля
1	Березовые опилки (контроль)	<i>A. mellea</i>	65–85	5,81 \pm 0,25	100,0
		<i>L. edodes</i>	63	11,57 \pm 0,18	100,0
		<i>G. frondosa</i>	43	28,88 \pm 0,26	100,0
2	Березовые опилки / пшеничные отруби	<i>A. mellea</i>	51–72	10,62 \pm 0,23	182,7
		<i>L. edodes</i>	44	20,35 \pm 0,16	175,8
		<i>G. frondosa</i>	29	33,50 \pm 0,23	116,3
3	Березовые опилки / пивная дробина	<i>A. mellea</i>	55–75	9,07 \pm 0,21	156,1
		<i>L. edodes</i>	50	17,56 \pm 0,19	151,7
		<i>G. frondosa</i>	33	31,31 \pm 0,17	108,4

На стадии – образование плодовых тел, лучшим оказался субстрат с березовыми опилками, обогащенными пшеничными отрубями (образец №2). Выход на этом субстрате составил 33,50 % для штамма *G. frondosa* 2639, 20,35 % для штамма *L. edodes* F-1000 и 10,62 % для *A. mellea* D-13.

Таким образом, схема получения плодовых тел *A. mellea* D-13, *L. edodes* F-1000 и *G. frondosa* 2639 включает следующие этапы: выбор растительного сырья, увлажнение до 65±5 %, термообработка 0,15 МПа / 90 мин., получение посевного мицелия на среде с мелассой в условиях глубинного культивирования, инокуляция в количестве 6 % от массы субстрата, инкубация при температуре 26±1 °С для *A. mellea* D-13 и *L. edodes* F-1000, 28±1 °С для *G. frondosa* 2639, плодоношение при относительной влажности воздуха 85–90 % и освещенности 200–250 люкс, сбор плодовых тел грибов.

Влияние водорастворимых витаминов на выход плодовых тел грибов

Проведено исследование, целью которого являлось изучение влияния витаминов на выход плодовых тел грибов.

Наблюдения за ростом грибов в глубинных условиях в присутствии витаминов, позволили определить их оптимальную концентрацию (0,20 мг/мл) в питательной среде. Введение витаминов в субстрат осуществлялось во время инокуляции его мицелием. В таблице 5 представлены экспериментальные данные по выходу грибов при внесении в субстрат с березовыми опилками, обогащенными пшеничными отрубями (3:1), витаминов в концентрации 0,20 мг/г.

Таблица 5 – Влияние витаминов на выход плодовых тел грибов

№	Вариант субстрата	Выход, %			% от контроля		
		<i>A. mellea</i>	<i>L. edodes</i>	<i>G. frondosa</i>			
1	березовые опилки / пшеничные отруби	10,60	20,35	33,50	100	100	100
2	рибофлавин	11,20	27,56	32,60	105,6	135,4	97,3
3	тиамин	10,88	28,44	35,40	102,6	139,7	105,6
4	никотиновая кислота	9,85	17,50	31,50	92,9	85,9	94,0
5	витамин С	10,60	20,40	33,40	100,0	100,2	99,7
6	п-аминобензойная кислота	10,20	20,15	32,34	96,2	99,0	96,5
7	биотин	10,55	20,10	33,00	99,5	98,7	98,5
8	мезо-инозит	10,34	18,25	33,37	97,5	89,6	99,6
9	витамин А	10,62	20,00	32,56	100,1	98,2	97,1
10	смесь витаминов	9,45	18,60	31,48	89,1	91,4	93,9

Примечание: относительная погрешность для выхода ±0,32%

Установлено, что рибофлавин и тиамин благоприятно влияют на выход плодовых тел грибов. При использовании оптимальной концентрации этих витаминов (0,20 мг/мл) достигалось увеличение выхода *L. edodes* F-1000 в 1,35–

1,40 раза. Мезо-инозит, витамин С, биотин, смесь витаминов, никотиновая и п-аминобензойная кислоты выявились не столь эффективными для повышения выхода грибов.

Таким образом, при интенсивном культивировании выбранных грибов, только для *L. edodes* F-1000 можно рекомендовать тиамин, как дополнительный источник питания в субстрате, повышающий выход в 1,40 раза.

Выделение хитозан-глиукановых комплексов из биомассы плодовых тел грибов и их физико-химические свойства

При проведении анализа ИК-спектроскопии было установлено, что образцы ХтГК, выделенные из плодовых тел грибов, по ИК-спектрам идентичны структуре хитозана, полученного традиционным способом из *Paralithodes camtschaticus*. Установлено, что испытуемые ХтГК по показателям характеристической вязкости (1,6–2,2 см³/г), молекулярной массы (37,5–51,8 кДа) и степени деацетилирования (75,6–79,5 %) значительно превосходят ХтГК, выделенный из плодовых тел *Pleurotus osteratus* и сопоставимы с ХтГК из *Aspergillus niger*. При этом ХтГК из *A. mellea* D-13 по этим показателям является наиболее близким к хитозану, выделенному из *Paralithodes camtschaticus*. По физико-химическим свойствам полученные ХтГК идентифицированы как соответствующие требованиям пищевого хитозана (ТУ 9289-067-00472124) (табл. 6).

Таблица 6 – Сравнительная характеристика физико-химических свойств ХтГК

№	Образец	Характеристическая вязкость [η], см ³ /г	Молекулярная масса, кДа	Степень деацетилирования, %
1	ХтГК <i>A. mellea</i>	2,2	51,8	79,5±2,6
2	ХтГК <i>L. edodes</i>	1,8	42,2	75,6±1,5
3	ХтГК <i>G. frondosa</i>	1,6	37,5	76,2±3,6
4	ХтГК <i>Pleurotus osteratus</i> *	1,5	35,1	75,0±1,4
5	ХтГК <i>Aspergillus niger</i> *	–	44,2	82,0-95,0
6	Хитозан <i>Paralithodes camtschaticus</i> *	4,2	72,4	87,8±5,1
7	Допустимые значения для пищевого хитозана (ТУ 9289-067-00472124)*	Не нормируется	Не нормируется	Не менее 75

Примечание: * – литературные данные

Была показана высокая эффективность извлечения ионов Co^{2+} и Fe^{3+} из водных растворов в нейтральных средах с помощью растворенных ХтГК (до 10,0 мг×экв./г) (рис. 3).

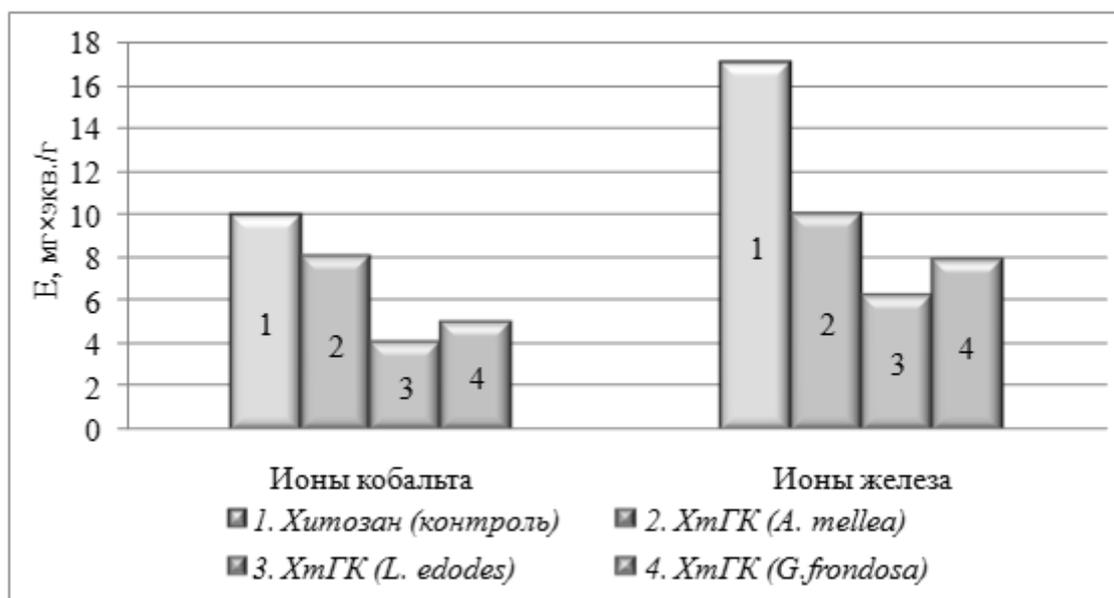


Рисунок 3 – Сорбция ионов кобальта и железа в водных растворах их солей (CoCl_2 , FeCl_3) ХтГК, растворенными в 0,33 М уксусной кислоте

ГЛАВА 4 ХИМИЧЕСКИЙ СОСТАВ БИОМАССЫ МИЦЕЛИЯ, ПЛОДОВЫХ ТЕЛ И ОТРАБОТАННЫХ СУБСТРАТОВ ПОСЛЕ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ ГРИБОВ

Химический состав биомассы мицелия и плодовых тел

Исследован химический состав биомассы мицелия и плодовых тел грибов. Определены белки, аминокислоты, углеводы, липиды, жирные кислоты, витамины, минеральные и экстрактивные вещества. Результаты приведены в таблице 7.

Таблица 7 – Химический состав мицелия и плодовых тел грибов

№	Основные показатели	М.д., %					
		<i>A. mellea</i>		<i>L. edodes</i>		<i>G. frondosa</i>	
		мицелий	плодовые тела	мицелий	плодовые тела	мицелий	плодовые тела
1	Белки ($\times 6,25$)	21,00 ± 0,50	20,43 ± 0,50	21,18 ± 0,50	17,16 ± 0,50	28,30 ± 0,50	27,28 ± 0,50
2	Липиды	2,75 ± 0,14	6,20 ± 0,25	0,75 ± 0,10	1,29 ± 0,12	0,80 ± 0,31	0,90 ± 0,36
3	Легкогидролизуемые полисахариды	18,83 ± 0,85	16,81 ± 0,96	19,00 ± 0,98	22,70 ± 0,78	24,00 ± 0,98	21,60 ± 0,34
4	Трудногидролизуемые полисахариды	4,56 ± 0,45	4,60 ± 0,65	5,50 ± 0,62	6,21 ± 0,32	6,75 ± 0,62	5,90 ± 0,46
5	Зольность	4,64 ± 0,12	10,60 ± 0,84	3,70 ± 0,42	8,45 ± 0,64	6,50 ± 0,56	8,50 ± 0,82
6	Экстрактивные вещества	16,40 ± 0,21	22,80 ± 0,92	10,60 ± 0,18	21,76 ± 0,46	11,00 ± 0,48	12,50 ± 0,54

Биохимический состав испытуемых грибов показывает, что они относятся к ценным пищевым продуктам, т.к. их мицелий и плодовые тела содержат большое количество белка, биологическая ценность которого, определялась по содержанию в нем незаменимых аминокислот (табл. 8).

Таблица 8 – Аминокислотный состав белка мицелия и плодовых тел

Наименование определяемой аминокислоты	Содержание, г/100г белка						
	FAO	<i>A. mellea</i>		<i>L. edodes</i>		<i>G. frondosa</i>	
		мицелий	плодовое тело	мицелий	плодовое тело	мицелий	плодовое тело
Лизин	5,50	2,10	2,36	5,12	4,15	5,20	5,00
Тирозин+фенилаланин	6,00	2,70	2,94	4,86	4,65	5,10	4,70
Лейцин+изолейцин	11,00	4,80	5,00	9,60	7,93	9,80	9,20
Метионин	3,50	0,22	0,23	3,45	2,81	3,41	3,30
Валин	5,00	1,85	1,90	3,90	2,70	4,21	3,20
Треонин	4,00	0,74	0,84	3,40	1,50	3,75	2,20

Из данных таблицы 8 видно, что белок мицелия и плодовых тел *G. frondosa* 2639 и *L. edodes* F-1000 по содержанию незаменимых аминокислот существенно отличается от белка мицелия и плодовых тел *A. mellea* D-13. Установлено, что среди незаменимых аминокислот в мицелии и плодовых телах испытуемых грибов преобладают – лейцин+изолейцин, тирозин+фенилаланин и лизин. Для сравнения, у эталонного белка FAO/ВОЗ наибольший удельный вес также приходится на вышеуказанные аминокислоты. Аминокислотный состав биомассы благоприятен для использования мицелия и плодовых тел в пищевых целях.

Помимо этого установлено, что в биомассе мицелия и плодовых телах грибов содержатся жирные кислоты, витамины группы В и минеральные вещества, удовлетворяющие требованиям СанПиН (2.3.2.1078-01).

Химический состав, пищевая ценность продуктов биоконверсии субстратов и их использование в птицеводстве

Проведены исследования по изучению структурных компонентов и биобезопасности продуктов биоконверсии субстратов в процессе зарастания их мицелием. Результаты исследований показали, что для *G. frondosa* 2639 характерна большая степень разложения лигнина 8,44 % и целлюлозы 8,80 % в сравнении с *A. mellea* D-13 – 6,14–6,30 % и *L. edodes* F-1000 – 4,47–7,60 % (табл. 9).

Таблица 9 – Изменение состава субстрата (образец №2) в процессе культивирования грибов (после всего периода плодоношения)

№	Основные показатели	М.д., %			
		Субстрат	<i>A. mellea</i>	<i>L. edodes</i>	<i>G. frondosa</i>
1	Лигнин	23,12±0,32	16,98±0,50	18,65±0,84	14,68±0,65
2	Целлюлоза	32,20±0,20	25,90±0,28	24,60±0,26	23,40±0,32
3	Зольность	3,54±0,08	2,10±0,05	2,45±0,09	1,96±0,06
4	Общий белок, N×4,38	–	7,23	7,44	7,01
5	Индекс микогенного ксилолиза	–	0,50	0,62	0,51
6	Полисахариды:	69,20±0,34	44,20±0,22	40,50±0,82	36,50±0,56
	– легкогидролизуемые	25,50±0,14	27,20±0,24	23,40±0,56	19,60±0,22
	– трудногидролизуемые	43,60±0,19	17,00±0,32	17,10±0,24	16,90±0,28
7	Липиды	1,30	2,90	2,10	2,23

Показателем разложения компонентов субстрата является индекс микогенного ксилолиза. При его расчете, было показано, что наибольшая степень разложения лигнина и целлюлозы характерна для *A. mellea* D-13 – 0,50. Благодаря содержанию в субстрате белков, липидов, легко- и трудногидролизуемых полисахаридов, макро- и микроэлементов в достаточном количестве, его можно использовать в качестве кормовых добавок для сельскохозяйственной птицы.

Показано, что добавление в рацион цыплят-бройлеров 100 г мицелиально-субстратного комплекса грибов *A. mellea* D-13, *L. edodes* F-1000 и *G. frondosa* 2639 составит 7,9 %, 7,7–9,3 % и 8,0–10,0 % от суточной потребности обменной энергии.

Содержание токсичных элементов в отработанном субстрате не превышает предельно допустимых концентраций по нормативным требованиям безопасности ВетПиН – 13-5-01/0101. В субстрате отсутствовали мышьяк и ртуть, являющиеся токсичными элементами (табл. 10).

Таблица 10 – Минеральный состав отработанного субстрата (образец №2) после выращивания грибов

№	Токсичный элемент, мг	*ВетПиН – 13-5-01/0101, не более мг/кг	Содержание в 1 кг		
			<i>A. mellea</i>	<i>L. edodes</i>	<i>G. frondosa</i>
1	Ртуть	0,20	–	–	–
2	Свинец	10,00	0,44	0,12	0,30
3	Фтор	150,00	4,00	15,00	6,00
4	Кадмий	1,00	менее 0,01	менее 0,01	менее 0,01
5	Мышьяк	4,00	–	–	–

*Допустимые уровни по ВетПиН – 13-5-01/0101

Таким образом, полученные данные химического состава показывают перспективность использования отработанного субстрата после выращивания грибов в птицеводстве.

Оценка экономической эффективности производства плодовых тел грибов

Установлено, что с учетом производительности предприятия ООО «Биотехнологии переработки облепихи» 1544 кг/год для *A. mellea* D-13, 5871 кг/год для *L. edodes* F-1000 и 9843 кг/год для *G. frondosa* 2639, себестоимость 1 кг грибов составит 811,0; 221,0 и 134,0 рублей, соответственно. Период окупаемости единовременных капитальных вложений при организации нового производства грибов составит 3,3 года для *L. edodes* F-1000 и 11 месяцев – для *G. frondosa* 2639.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Мировые объемы отходов производств сельского и лесного хозяйств составляют – 2,5 и 3,2 млрд. тонн, соответственно. В Российской Федерации эти показатели составляют около 773,0 млн. тонн для сельского хозяйства и 1167,0 млн. тонн – для лесного. Только в Алтайском крае ежегодное накопление лигноцеллюлозных отходов составляет более 10 млн. тонн. Возможность использования этих отходов является актуальной задачей для России. Одним из важных направлений сельского хозяйства в ряде ведущих стран является грибоводство, которое основано на получении пищевых продуктов с использованием растительных отходов и одновременным сохранением окружающей среды.

На сегодняшний день в Российской Федерации оптимальные методы культивирования грибов являются малоизученными. Основная причина заключается в том, что грибоводство в России длительное время не развивалось. В промышленных масштабах в основном выращивали шампиньоны (*Agaricus bisporus*) и вешенки (*Pleurotus ostreatus*). В связи с этим, в области промышленного производства грибов и его материально-технического обеспечения в России имеются значительные отставания. Поэтому разработка методов интенсивного культивирования ценных грибов-ксилотрофов с применением различных активно воздействующих абиотических и биотических факторов роста (максимально приближенных к природным), приведет к эффективности утилизации отходов деревообрабатывающей промышленности и сельскохозяйственного производства, интенсификации процессов развития мицелия и плодовых тел, что, в свою очередь, позволит организовывать малоотходные производства на основе культивируемых грибов и получать дополнительные продукты для пищевых, фармацевтических и сельскохозяйственных целей. На основании результатов проведенных исследований можно сделать следующие выводы.

1. Определены эколого-биохимические особенности интенсивного культивирования грибов. Установлено, что для роста мицелия *A. mellea* D-13, *L. edodes* F-1000 оптимальной является температура 26 ± 1 °С, для *G. frondosa* 2639 28 ± 1 °С, значение pH среды 5,8–6,0. Оптимальная влажность субстрата для роста мицелия – 65 ± 5 %, относительная влажность воздуха для формирования примордиев и образования плодовых тел – 85–90 %,

освещенность в пределах 200–250 люкс и стационарная специфическая атмосфера с определенной концентрацией CO₂ и других летучих газов. При использовании оптимальной концентрации рибофлавина и тиамин (0,20 мг/мл) достоверно достигалось (p=0,95) увеличение биомассы мицелия *L. edodes* F-1000 в 1,26–1,32 раза и выхода плодовых тел в 1,35–1,40 раза.

2. Показано, что наиболее благоприятной средой для роста мицелия *A. mellea* D-13, *L. edodes* F-1000 и *G. frondosa* 2639 в глубинных условиях является среда со свекловичной мелассой, превышающая контроль в 2,9; 2,1; 1,3 раза, соответственно.

3. Разработаны методы интенсивного культивирования грибов *A. mellea* D-13, *L. edodes* F-1000 и *G. frondosa* 2639 на лигноцеллюлозных отходах производств Алтайского края. Установлен оптимальный субстрат для интенсивного культивирования грибов: березовые опилки / пшеничные отруби (3:1). Выход на этом субстрате превышал контроль в 1,8 раза для *A. mellea* D-13 и *L. edodes* F-1000, в 1,2 раза – для *G. frondosa* 2639.

4. Установлено, что полученные образцы ХтГК из плодовых тел грибов по показателям характеристической вязкости (1,6–2,2 см³/г), молекулярной массы (37,5–51,8 кДа) и степени деацетилирования (75,6–79,5 %) значительно превосходят ХтГК, выделенного из плодовых тел *Pleurotus osteratus*, и сопоставимы с ХтГК из *Aspergillus niger*. По физико-химическим свойствам полученные ХтГК идентифицированы, как соответствующие требованиям пищевого хитозана (ТУ 9289-067-00472124). Показана высокая сорбция ионов кобальта и железа ХтГК, выделенными из *A. mellea* D-13, *L. edodes* F-1000 и *G. frondosa* 2639 – 8,0–10,0; 4,0–6,2 и 5,0–7,8 мг×экв./г, соответственно.

5. Впервые на используемых субстратах изучен химический состав биомассы мицелия, плодовых тел и мицелиально-субстратных комплексов грибов и исследована возможность их применения в качестве продуктов питания и кормовых добавок для сельскохозяйственной птицы. Показано, что добавление в рацион цыплят-бройлеров 100 г мицелиально-субстратного комплекса грибов *A. mellea* D-13, *L. edodes* F-1000 и *G. frondosa* 2639 составит 7,9 %, 7,7–9,3 % и 8,0–10,0 % от суточной потребности обменной энергии.

6. Установлено, что с учетом производительности предприятия ООО «Биотехнологии переработки облепихи» 1544 кг/год для *A. mellea* D-13, 5871 кг/год для *L. edodes* F-1000 и 9843 кг/год для *G. frondosa* 2639, себестоимость производства 1 кг грибов составит 811,0; 221,0 и 134,0 рублей, соответственно. Период окупаемости единовременных капитальных вложений при организации нового производства грибов составит 3,3 года для *L. edodes* F-1000 и 11 месяцев – для *G. frondosa* 2639.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

ГП – глюкозо-пептонная среда;	ОЭ – обменная энергия;
КГА – картофельно-глюкозный агар;	РК – ростовой коэффициент;
СА – сусло-агаровая среда;	СР – среднесуточная скорость роста;
ЛГП – легкогидролизуемые полисахариды;	ХтГК – хитозан-глюкокановый комплекс;
ТГП – трудногидролизуемые полисахариды;	БАВ – биологически активные вещества;
НЖК – насыщенные жирные кислоты;	<i>A. mellea</i> D-13, <i>L. edodes</i> F-1000 и
ННЖК – ненасыщенные жирные кислоты;	<i>G. frondosa</i> 2639 – грибы.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

Статьи в журналах, включенных в Перечень рецензируемых научных изданий в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук:

1. **Минаков Д. В.** Влияние витаминов на рост и развитие мицелия некоторых базидиомицетов в жидкой среде / Д. В. Минаков, К. В. Севодина, А. И. Шадринцева, В. П. Севодин // Техника и технология пищевых производств. – 2016. – Т. 43, № 4. – С. 43–49. – 0,44 / 0,25 а.л.

в переводной версии журнала: **Minakov D. V.** Influence of vitamins on growth and development of mycelium of some basidiomycetes in liquid medium / D. V. Minakov, K. V. Sevodina, A. I. Shadrintseva, V. P. Sevodin // Equipment and Technology of Food Production. – 2016. – Vol. 43, is. 4. – P. 43–49.

2. **Минаков Д. В.** Сравнительная оценка аминокислотного и белкового составов мицелия и плодовых тел некоторых базидиомицетов / Д. В. Минаков, К. В. Севодина, А. И. Шадринцева, В. П. Севодин // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. – 2016. – Т. 6, № 3. – С. 50–56. – DOI: 10.21285/2227-2925-2016-6-3-50-56. – 0,44 / 0,25 а.л.

3. **Минаков Д. В.** Сравнительная оценка некоторых базидиомицетов в поверхностной и глубинной культуре / **Д. В. Минаков**, К. В. Севодина, А. И. Шадринцева, В. П. Севодин // Известия вузов. Прикладная химия и биотехнология. – 2016. – Т. 6, № 4. – С. 46–52. – DOI: 10.21285/2227-2925-2016-6-4-46-52. – 0,44 / 0,30 а.л.

4. **Минаков Д. В.** Зависимость продуктивности *Grifola frondosa* от размера частиц лигноцеллюлозного субстрата / Д. В. Минаков, К. В. Севодина, А. И. Шадринцева, В. П. Севодин // Техника и технология пищевых производств. – 2017. – Т. 44, № 1. – С. 24–30. – 0,44 / 0,26 а.л.

в переводной версии журнала: Minakov D. V. Dependence of *Grifola frondosa* efficiency on particle size of lignocellulose substrate // D. V. Minakov,

K. V. Sevodina, A. I. Shadrinseva, V. P. Sevodin // Food Processing: Techniques and Technology. – 2017. – Vol. 44, is. 1. – P. 24–30.

Патенты:

5. Патент № 2586483 Российская Федерация, МПК C12N1/14, A01G 1/04. Питательная среда для глубинного культивирования мицелия *Armillaria mellea* / **Минаков Д. В.** (RU), Севодина К. В. (RU), Севодин В. П. (RU); патентообладатель федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Алтайский государственный технический университет им. И.И. Ползунова» (АлтГТУ) (RU). – № 2015112038/10; заявл. 02.04.2015, опубл. 10.06.2016, Бюл. № 16. – 6 с.

6. Патент № 2595737 Российская Федерация, МПК A01G 1/04. Субстрат для выращивания грибов *Grifola frondosa* / **Минаков Д. В.** (RU), Севодина К. В. (RU), Куничан В. А. (RU), Севодин В. П. (RU); патентообладатель федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Алтайский государственный технический университет им. И.И. Ползунова» (АлтГТУ) (RU). – № 2015112074/13, заявл. 02.04.2015; опубл. 27.08.2016, Бюл. № 24. – 5 с.

Публикации в прочих научных изданиях:

7. **Минаков Д. В.** Изучение накопления биомассы мицелия *Armillaria mellea* в жидкой среде / Д. В. Минаков, А. И. Шадринцева // Ломоносовские чтения на Алтае: фундаментальные проблемы науки и образования : избранные труды международной конференции. Барнаул, 20–24 октября 2015 г. – Барнаул, 2015. – С. 1319–1323. – 0,31 / 0,25 а.л.

8. **Минаков Д. В.** Культивирование *Grifola frondosa* на субстрате с березовыми опилками / Д. В. Минаков, К. В. Севодина, В. П. Севодин // Техника и технология пищевых производств. – 2016. – Т. 40, № 1. – С. 39–45. – 0,44 / 0,20 а.л.

9. **Минаков Д. В.** Сравнительный анализ аминокислотного и белкового составов мицелия и плодовых тел *Armillaria mellea* (Vahl: Fr.) P. Kumm. / Д. В. Минаков, А. М. Камнев // Пища. Экология. Качество : труды XIII международной научно-практической конференции. Красноярск, 18–19 мая 2016 г. – Красноярск, 2016. – Т. 1. – С. 318–322. – 0,31 / 0,25 а.л.

10. **Минаков Д. В.** Изучение химического состава субстрата после выращивания некоторых базидиальных грибов / Д. В. Минаков, А. Л. Верещагин, А. А. Сеницына // Технологии и оборудование химической, биотехнологической и пищевой промышленности : материалы X Всероссийской научно-практической конференции студентов, аспирантов и молодых ученых с международным участием. Бийск, 24–26 мая 2017 г. – Бийск, 2017. – С. 359–362. – 0,25 / 0,15 а.л.

11. **Минаков Д. В.** Влияние сверхмалых концентраций интермедиатов цикла Кребса на рост и развитие мицелия некоторых базидиомицетов в жидкой среде / Д. В. Минаков, А. И. Шадринцева, А. Л. Верещагин, А. А. Сеницына // Технологии и оборудование химической, биотехнологической и пищевой промышленности : материалы X Всероссийской научно-практической

конференции студентов, аспирантов и молодых ученых с международным участием. Бийск, 24–26 мая 2017 г. – Бийск, 2017. – С. 363–365. – 0,19 / 0,09 а.л.

12. **Минаков Д. В.** Изучение влияния кислот цикла Кребса на выход плодовых тел ксилотрофных базидиомицетов / Д. В. Минаков, А. Л. Верещагин // Технологии и оборудование химической, биотехнологической и пищевой промышленности : материалы XI Всероссийской научно-практической конференции студентов, аспирантов и молодых ученых с международным участием. Бийск, 23–25 мая 2018 г. – Бийск, 2018. – С. 447–449. – 0,19 / 0,09 а.л.

13. Долгашева Д. С. Сорбция ионов тяжелых металлов хитозан-глюкановым комплексом / Д. С. Долгашева, **Д. В. Минаков**, А. Л. Верещагин // Технологии и оборудование химической, биотехнологической и пищевой промышленности : материалы XI Всероссийской научно-практической конференции студентов, аспирантов и молодых ученых с международным участием. Бийск, 23–25 мая 2018 г. – Бийск, 2018. – С. 457–461. – 0,31 / 0,15 а.л.

Издание подготовлено в авторской редакции.
Отпечатано на участке цифровой печати
Издательского Дома Томского государственного университета
Заказ № 38-1018 от «26» октября 2018 г. Тираж 100 экз.
г. Томск Московский тр.8 тел. 53-15-28