

**НАЦІОНАЛЬНИЙ ТЕХНІЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ УКРАЇНИ
«КИЇВСЬКИЙ ПОЛІТЕХНІЧНИЙ ІНСТИТУТ»**

Факультет біотехнології і біотехніки
(повна назва інституту/факультету)

Кафедра промислової біотехнології
(повна назва кафедри)

Дипломний проект

на здобуття ступеня бакалавра

з напрямку підготовки 6.051401 Біотехнологія
(код і назва)

на тему: Технологія виробництва біомаси *Trametes versicolor*. Дільниця підготовки поживного середовища

Виконав: студент 4 курсу, групи БТ-21
(шифр групи)

Карпеко Катерина Миколаївна _____
(прізвище, ім'я, по батькові) (підпис)

Керівник старш. викл., к.т.н. Тітова Л.О. _____
(посада, науковий ступінь, вчене звання, прізвище та ініціали) (підпис)

Консультант Розділ 5 доц., к.т.н. Ружинська Л.І. _____
(назва розділу) (посада, вчене звання, науковий ступінь, прізвище, ініціали) (підпис)

Рецензент старш. викл., к.б.н., Ситнік О.І. _____
(посада, науковий ступінь, вчене звання, науковий ступінь, прізвище та ініціали) (підпис)

Київ – 2016 року

Відомо, що самопочуття людини безпосередньо залежить від продуктів харчування, які вона споживає. Харчування повинне не тільки задовольняти фізіологічні потреби організму, а й виконувати профілактичні функції. Здійснити це можливо за рахунок розвитку виробництва функціональних харчових продуктів.

Постійно розширюється асортимент функціональних харчових продуктів, основою яких є біомаса лікарських грибів чи її екстракти. Продуцентами цінних сполук – вітамінів, ферментів, амінокислот, антибіотиків є базидіальні гриби. Особливо широким спектром лікарських властивостей відрізняються гриби роду *Trametes*. Серед базидіальних грибів, які активно досліджувались для створення лікувальних препаратів, чільне місце займає вид *Trametes versicolor* (Fr.) Quel.

На основі одного з штамів *T. versicolor* фірмою Kureha Chemical Industry Co. був розроблений препарат Крестин, діючою речовиною якого є імуномодулюючі протеїновмісні полісахариди, що екстрагуються з міцеліальної маси гриба. В Південній Кореї випускають аналог PSK - Copolang, в Китаї - IPPV. На основі *T. versicolor* CV-OH1 в Європі розроблено функціональну харчову добавку Coriolus-MRL компанією Mycology Research Laboratory (MRL). Технологія виробництва препарату передбачає поверхневе культивування штаму на зерновому субстраті. Одержуваний продукт містить міцелій і примордії гриба.

Відомості про вітчизняні препарати на основі міцелію грибів виду *Trametes versicolor*, отриманого глибинним культивуванням, відсутні. Таким чином, створення біотехнологій на основі базидіальних грибів роду *Trametes* є **актуальним** в Україні.

В даному проекті запропоновано глибинний спосіб культивування міцелію *T. versicolor*, що дає можливість зменшити виробничі площі, забезпечити високий рівень автоматизації та раціональне використання поживного середовища.

Метою роботи було вдосконалити ділянку приготування поживного середовища технології виробництва біомаси базидіальних грибів *T. versicolor*.

Для досягнення зазначеної мети були поставлені наступні **завдання**:

1. Обґрунтувати вибір штаму-продуценту та оптимального складу поживного середовища для біосинтезу цільового продукту.
2. Проаналізувати основні методи отримання промислового продуценту та запропонувати схему отримання продуценту на основі опрацьованих матеріалів.
3. На основі даних фахової літератури запропонувати технологічну схему виробництва субстанції біомаси *Trametes versicolor* та обрати відповідне апаратурне оснащення.
4. Обґрунтувати вибір конструкції реактора для приготування поживного середовища та провести розрахунок апарату.

Дереворуйнівні гриби роду *T. versicolor* не вимогливі до складу поживних середовищ (культивування можна проводити на середовищах, основу яких складають відходи харчової промисловості) і характеризуються високою швидкістю росту саме в глибинній культурі, що робить їх перспективними як штами-продуценти в промисловій біотехнології. За комплексом ознак як перспективний по накопиченню біомаси та вмісту білка в міцелію обрано штам *T. versicolor* 353 з колекції шапинкових грибів Інституту ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України.

Культивування міцелію глибинним методом має певні переваги перед традиційним методом отримання плодових тіл: можливість стандартизувати отриманий продукт, регулювання виходу БАД за допомогою поживного середовища та умов культивування, а також використовувати досягнення генної інженерії в біотехнологічних процесах.

Для забезпечення поживних потреб грибів роду *Trametes*, синтетичних і окислювальних процесів, що проходять в клітині, необхідні наступні сполуки: вуглець, нітроген, мінеральні речовини, мікроелементи, вітаміни.

Як джерело вуглецю було обрано мелясу, що пов'язано з найвищими показниками накопичення біомаси на середовищі, яке містить сахарозу.

Для забезпечення росту міцелію та високого вмісту в ньому протеїну важливо правильно підібрати джерело азоту в живильному середовищі. Потреба грибів у азоті значною мірою залежить від задоволення їхніх потреб джерелом вуглецю. Для досягнення максимально високого виходу біомаси необхідно встановити оптимальне співвідношення вуглецю й азоту в поживному середовищі. Як джерело азоту в поживному середовищі для культивування було обрано сіль $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$.

Крім джерел вуглецю і азоту грибам необхідні численні мінеральні речовини. Найважливіші серед них - фосфор, сірка, калій, магній. Ці мінеральні речовини засвоюються в основному у вигляді солей. В склад поживного середовища запропоновано вносити KH_2PO_4 , K_2HPO_4 , MgSO_4 та дріжджовий екстракт.

Ріст грибів у глибинній культурі найбільш інтенсивно відбувається у вигляді дрібнодисперсної форми міцелію (пульпоподібної). Саме такий ріст характерний для грибів при дотриманні оптимальних умов культивування.

Важливим екологічним фактором, який істотно впливає на ріст і життєздатність грибів, є температура. *T. versicolor* 353 є мезофілом, оптимальна температура культивування для якого становить 28°C.

Відомо, що *T. versicolor* здатен до активного росту в широкому діапазоні рН (від 3,5 до 7,5). Оптимальна кислотність для нього становить рН 4,7 і коливається в межах від 4,2 до 5,5,

В результаті глибинного культивування *T. versicolor* 353 відбувається накопичення функціонально-активної біомаси, склад фракції якої залежить від складу поживного середовища та умов проведення процесу.

Питання про використання культурального міцелію їстівних базидіоміцетів для харчових цілей значною мірою пов'язаний з оцінкою його поживних властивостей. Це в першу чергу, визначається вмістом білка, що міститься в одержуваній біомасі, його якісним складом і засвоюваністю

білка. Білок біомаси *T. versicolor* відрізняє високий вміст цінних незамінних амінокислот - триптофану, треоніну і лізину.

Ліпідна фракція включає жирні кислоти, тригліцериди, стерини, вуглеводні, воски і фосфоліпіди. Поліненасичені та мононенасичені жирні кислоти позитивно впливають на стан здоров'я людини: їх наявність у дієті сприяє зниженню рівня холестерину в крові, регуляції кров'яного тиску та покращенню кровообігу.

Біологічно-активні речовини базидіальних грибів (феноли, флавоноїди та вітаміни тощо) виявляють антиоксидантні властивості. Також слід відзначити здатність полісахаридів грибів активувати імунну відповідь клітин хворої на рак людини.

Міцелій містить багато мікроелементів, серед яких присутні дефіцитні в нашому харчуванні залізо, кобальт, молібден і селен, що входять в структуру коферментів, що беруть участь у багатьох біохімічних обмінних процесах життєзабезпечення.

Першим етапом у селекційній роботі з вищими грибами є первинний добір штамів, перспективних для селекції. Найбільш важливими ознаками при відборі є: швидкість росту на поживних середовищах для культивування, стійкість при зберіганні й транспортуванні. Для отримання високопродуктивного штаму *T. versicolor* в даній технології головним критерієм добору є рівень продукування сполук, які є складовими цільового продукту та термін досягнення максимального накопичення міцеліальної біомаси.

Методи селекції отримання високопродуктивного штаму *Trametes versicolor* 353 ґрунтуються на відборі, що відбувається на фоні природної мінливості організму. Вихідна культура проходить наступні етапи: висів музейної культури на чашки Петрі з середовищем різного складу; перевірка активності відносно широкого спектру джерел вуглецю і азоту, стійкості зростання міцелію; вивчення і відбір штамів з найкращими показниками необхідних властивостей; стабілізація і

перевірка на збереження необхідних показників штаму шляхом множинних пересівів і масштабування. Стабільні штами впроваджують в промисловість.

Кінцева продукція являє собою субстанцію біомаси грибів виду *Trametes versicolor*. Даний продукт випускається у формі порошку, який фасується у полімерні пакети. Продукт призначений для підприємств, які випускають функціональні харчові продукти.

В дипломному проекті обрано ефективне обладнання для підготовки меляси - одного з компонентів поживного середовища. Об'єм реактору становить 5 м³, коефіцієнт заповнення апарату – 0,8. Змішувач оснащено сорочкою для стерилізації меляси. Перемішуючим пристроєм обрана швидкохідна мішалка - турбінна, що пов'язано з низькою в'язкістю розчину меляси. Частота обертання валу мішалки – 3,33 с⁻¹. Конструкція дозволяє досягти необхідної якості перемішування при мінімальних витратах енергії за найкоротший термін.

Були сформульовані наступні **висновки**:

1. Обґрунтовано вибір штаму *Trametes versicolor* 353 з колекції шапинкових грибів Інституту ботаніки ім. М. Г. Холодного НАН України для технології виробництва біомаси цього штаму. При глибинному культивуванні штаму накопичує 20 г/дм³ біомаси та 4,3 г/100г білка за 62 год.

2. Обрано раціональний склад поживного середовища для культивування продуценту, що містить 35 г/дм³ меляси, 2,5 г/дм³ (NH₄)₂SO₄, 0,3 г/дм³ дріжджового екстракту, 1,0 г/дм³ KH₂PO₄, 1,0 г/дм³ K₂HPO₄, 0,25 г/дм³ MgSO₄. Культивування штаму на даному середовищі забезпечує збільшення виходу біомаси в 1,5 рази.

3. Запропоновано схему отримання продуценту за допомогою штучного добору.

4. Обрано технологічну та апаратурну схеми, що враховують особливості штаму *T. versicolor* 353. Для реалізації технологічного процесу підібрано відповідне апаратурне оснащення.

5. Розраховано матеріальний баланс виробництва для стадії підготовки поживного середовища, що дає змогу отримати $0,315 \text{ м}^3$ поживного середовища для підготовки посівного матеріалу і $3,15 \text{ м}^3$ поживного середовища для виробничого біосинтезу.

6. Розраховано та запропоновано конструкцію апарату для підготовки поживного середовища. Було обрано реактор з рубашкою для стерилізації поживного середовища, об'ємом 5 м^3 , турбінною мішалкою та частотою обертання мішалки – $3,33 \text{ с}^{-1}$. Технологічні, конструктивні розрахунки та технічна характеристика апарату, наведені в даній роботі, підтверджують правильність вибору технологічного обладнання.