Центральноукраїнський національний технічний університет
Агротехнічний факультет
Кафедра екології та охорони навколишнього середовища

Пояснювальна записка

до дипломної роботи
магістра

на тему: «Екологічне обґрунтування вирощування гриба Ganoderma lucidum інтенсивним способом на солом'яних субстратах»

Виконав студент VI курсу, групи ЕО-17 м
Спеціальності 101 – «Екологія»

Єрух Є. І.

Керівник: Коломієць Л.В.

Рецензент: Гелевера О.Ф.

Кропивницький – 2020 року

РЕФЕРАТ

Пояснювальна записка: 81 с., 12 рис., 12 табл., 2 додатки, 89літературних джерел.

Об’єкт дослідження: є технологія вирощування гриба Ganoderma lucidum інтенсивним способом на солом’яних субстратах з метою отримання екологічно чистої сировини для фармацевтичної промисловості

Метою роботи є екологічне обґрунтування можливості вирощування гриба Ganoderma lucidum інтенсивним способом на солом’яних субстратах в овочівництві захищеного ґрунту.

.У вступі підкреслюється актуальність можливої реалізації вітчизняного наукового потенціалу у сфері виробництва біологічно активних речовин (БАР) з лікарських макроміцетів.

Перший розділ містить огляд літературних джерел та аналіз даних щодо використання лікарських макроміцетів для виробництва кормових антибіотиків для тваринницької галузі.

У другому розділі фізико-географічну характеристику району досліджень та основні умови в яких вони проходили.

Третій розділ присвячено методам досліджень основних параметрів вирощування гриба Ganoderma lucidum інтенсивним способом на солом’яних субстратах та подальшої використання його у виробництві тритерпенів та подано основні методики.

В четвертому розділі наведено результати досліджень та розрахунків отримання Циклооктасульфуру.

В п’ятому розділі проведено порівняльний розрахунок економічної ефективності реалізація гриба Ganoderma lucidum для фармацевтичної промисловості.

В розділі «Охорона праці та довкілля» проведено аналіз ризиків виникнення небезпечних та шкідливих факторів, які можуть виникнути під час вирощування гриба Ganoderma Lucidum інтенсивним способом, проводиться паспортизація санітарно-технічного стану виробничих ділянок

вирощування гриба Ganoderma Lucidum. Розроблені заходи з пожежної профілактики та проведений розрахунок захисту споруди для вирощування гриба Ganoderma Lucidum від блискавки, обґрунтування якого можна використати у типовому господарстві з урахування конкретних умов.

У висновках приведені результати магістерської роботи та визначені перспективи розроблених заходів.

ГРИБ GANODERMA LUCIDUM, ТРИТЕРПЕНИ, ПОЖИВНІ СЕРОДОВИЩА, СОЛОМЯНІ СУБСТРАТИ, КОРМОВІ АНТИБІОТИКИ

ЗМІСТ

	Стор.
Реферат	2
ВСТУП	8
РОЗДІЛ1. БІОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ РЕЙШІ ТА ЙОГО РОЛЬ У ВИГОТОВЛЕННІ КОРМОВИХ АНТИБІОТИКІВ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)	10
1.1. Поживні середовища для отримання міцелію базидіальних грибів	12
1.2. Різні типи культивуваннябазидіальних грибів	14
1.3.Твердофазне культивування базидіальних грибів	16
1.4.Вітаміни та їх роль в гомеостазі організмів	21
1.5.Стан промислового культивування грибів в Україні	21
1.6.Промислове виробництво антибіотиків	23
РОЗДІЛ 2.ХАРАКТЕРИСТИКА ВИРОБНИЧИХ ПОТУЖНОСТЕЙ ТОВ «ЕМ УКРАЇНА» ТА ПРИРОДНЬО-КЛІМАТИЧНИХ УМОВ	26
2.1. Організаційно-економічні умови господарства	26
2,2. Коротка характеристика грунтово-кліматичних умов	29
РОЗДІЛ 3.МЕТОДИ ОТРИМАННЯ КОРМОВИХ АНТИБІОТИКІВ	31
3.1. Методика вирощування гриба Рейші	31
3.2. Методи дослідження	31
РОЗДІЛ 4. БАКТЕРІОСТАТИЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ГРИБНИХ МЕТАБОЛІТІВ ПРИ ВИРОБНИЦТВІ ТРИТЕРПЕНІВ	37
4.1. Загальна характеристика умов культивування гриба Ganoderma Lucidum	37
4.2. Характеристика препарату Циклооктасульфур	40
4.3. Обладнання для виробництва препарату Циклооктасульфура на відходах промислових підприємств	47
4.4. Підбір оптимального складу поживного середовища для отримання препарату Циклооктасульфура	49
4.5.Технологічна схема виробництва кормового тритерпену	54

Циклооктасульфуру
РОЗДІЛ 5. ЕКОНОМІЧНА ЕФЕКТИВНІСТЬ ПРОРОДООХОРОННИХ ЗАХОДІВ 53
РОЗДІЛ 6. ОХОРОНА ПРАЦІ ТА ДОВКІЛЛЯ 56
6.1. Аналіз розташування території товариства, споруд і приміщень у ТОВ «ЕМ Україна». 56
6.2. Особливості умов праці та аналіз небезпечних і шкідливих факторів, які виникають під час вирощування гриба Ganoderma Lucidum 58
6.3. Розробка заходів по запобіганню дії небезпечних та шкідливих виробничих факторів і покращенню умов праці 59
6.3.1. Розрахунок системи вентиляції лабораторії для проведення екологічного обґрунтування вирощування гриба Ganoderma Lucidum інтенсивним способом 59
6.3.2. Вибір і обґрунтування засобів індивідуального захисту 61
6.3.3. Обов’язки роботодавця щодо створення безпечних і нешкідливих умов праці при вирощуванні гриба Ganoderma Lucidum інтенсивним способом 62
6.3.4. Розробка інструкції з охорони праці під час виконання робіт по вирощуванню гриба Ganoderma Lucidum інтенсивним способом 64
6.4. Розробка заходів з пожежної профілактики 65
6.5. Висновки по розділу. 65
Висновки 70
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ 71
Додаток 78

ВСТУП

Актуальність роботи. В Україні для виробництва препаратів фармацефтицного використання гриби відіграють поки що незначну роль. В сучасних нестабільних умовах виробництва препаратів з імуномоделюючими властивостями переважає розробка та виробництво препаратів з рослинної сировини. В той же час гриби починають завойовувати своє «місце під сонцем». У східній медицині гриб Ganoderma lucidum здавна використовувався. В сучасних умовах з його продових тіл добувають речовини – тритерпени, котрі використовують для лікування онкозахворювань, а також використовують для виготовлення Циклооктасульфуру – кормового антибіотика, котрий завойовує місце серед рослинних біологічно активних речовин. Однією з причин цього є те, що дана сфера високотехнологічна і тому потребує більш розвиненого стану економіки загалом.

Об'єктом дослідження є технологія вирощування гриба Ganoderma lucidum інтенсивним способом на солом'яних субстратах з метою отримання екологічно чистої сировини для фармацевтичної промисловості

Предметом дослідження є дослідження технологічного процесу отримання кормового антибіотика як об'єкта автоматизації отримання екологічно безпечної продукції грибівництва в умовах захищеного ґрунту.

Мета досліджень. Метою роботи є екологічне обґрунтування інтенсифікації вирощування гриба Ganoderma lucidum на солом'яних субстратах в овочівництві захищеного ґрунту.

Для досягнення зазначеної мети необхідно вирішити такі завдання:

1) систематизувати та узагальнити теоретичні засади доцільності вирощування гриба Ganoderma lucidum інтенсивним способом на солом'яних субстрата в трьох зональній грибівниці;

2) дослідити можливість застосування плодових тіл гриба Ganoderma lucidum в якості БАР з урахуванням як зарубіжного так і вітчизняного досвіду;

3) узагальнити діючі технології культивації на целюлозо - та лігніновміщуючих субстратах;

4) здійснити виробничо-економічну оцінку ефективності вирощування гриба Ganoderma lucidum

Основні положення дипломної роботи:

Наукова новизна полягає у розробці технології, котра б дозволила культивувати гриб Ganoderma lucidum на більш дешевій сировині для отримання високоякісної продукції, що призведе до зниження її загальної собівартості.

Практична цінність роботи. Практичне значення отриманих результатів полягає у формуванні екологічно безпечних технологічних рекомендацій з промислового культивування гриба Ganoderma lucidum на більш дешевих солом'яних субстратах. Реалізація цих пропозицій дозволить обґрунтовано скоротити період вирощування даної сировини для фармацевтичної промисловості.

Апробація результатів роботи. Позитивно характеризують роботу свідчення про те, що основні її положення, висновки та результати було оприлюднені і вони дістали схвалення, тобто були апробовані.

Публікації. Результати проведених досліджень в даній магістерській роботі опубліковані у вигляді тез доповідей: Єрух Є.І. Технологія вирощування гриба Ganoderma lucidum з метою отримання кормових антибіотиків. Сучасні технології агропромислового виробництва : матеріали I Міжнародної студентської науково-практичної інтернет конференції 19 листопада 2020 р. Кропивницький – Chișinău : ЦНТУ, 2020. С. 16-18 [20].

РОЗДІЛ 1.
БІОЛОГІЧНІ ОСОБЛИВОСТІ РЕЙШІ ТА ЙОГО РОЛЬ У ВИГОТОВЛЕННІ КОРМОВИХ АНТИБІОТИКІВ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

До складу плодових тіл гриба Ganoderma Lucidum, лінчжі або рейші входять стероїдні сполуки, сапоніни, флавоноїди, амінокислоти, алкалоїди, полісахариди, трітерпени, водорозчинні білки, кумарини, мікро- і макроелементи: Ag, Ca, Fe, K, Na, Mn, Zn, Ba. У грибі міститься 2,5% полісахаридів, 5% ліпідів, 17,11% білків і 62,63% клітковини, тобто 0,3% сапонінів, 1,15% антибіотиків [1, 4].

Багато лікарських властивостей Лінчжі пов'язано з присутністю полісахаридів. В Японії в офіційній медицині доведена ефективність в профілактиці і лікуванні онкологічних захворювань з використанням екстрактів, добутих з гриба Линчжи. Доведено імуномодулюючий ефект, обумовлений дією полісахаридів на кістковий мозок, що супроводжується збільшенням РНК і ДНК на 50%, збільшенням числа макрофагів [6].

Але на цьому корисні властивості цього гриба не закінчуються, Рейша містить унікальні мінерали та речовини:

1) комплекс амінокислот, що очищають організм від шлаків;

2) поліненасичені жирні кислоти, користь яких в боротьбі з раковими пухлинами доведена офіційною медициною [9];

3) полісахариди, сапоніни, кумарини, позитивно впливають на імунну систему;

4) трітерпеноїди, фітонциди, групу вітамінів C, D і B;

5) повний набір мікроелементів: від марганцю до цинку і міді.

Тритерпеноїди – унікальні речовини, що робить гриб рейши лікувальним для тих, хто піддається впливу радіації. Ці молекули не дають утворюватися в організмі шкідливим сполукам.

Вживати гриб Рейши можна не тільки з овочами або м'ясом, але й робити з нього чай, який корисний наступним: при систематичному вживанні

омолоджує, зміцнює імунітет, бореться з дипресивними станами різного психосоматичного походження, відновлює баланс мікроелементів, бореться із запаленням і стимулює роботу центральної нервової системи [3, 11].

Справжній трутовик (Ganoderma Lucidum) – об'єкт вивчення багатьох вчених з Канади, Японії, Франції та Китаю. Особливо цікаві його цілющі властивості при лікування онкологічних захворювань: Рейша активно вивчається у багатьох країнах світу. Чи не найголовнішим питанням в сучасній медицині чи допомагає він в профілактиці ракових пухлин.

Однак таку пристальну увагу медицини на гриб було звернуто зовсім недавно. Але навіть за цей час деякі сфери охорони здоров'я знайшли велику користь від застосування цього виду грибів. Ось далеко не повний перелік його корисних властивостей [14]:

1) допомагає при захворюваннях серця і судин, відновлює баланс тиску;

2) входить до складу фітопрепаратів для лікування діабету;

3) відновлює нервову систему, допомагає боротися з дипресивними станами, сонливістю і апатією;

4) допомагає боротися з набряками, використовується в дієтах для схуднення;

5) пригнічує запальні процеси, викликані інфекціями дихальних шляхів, шлунково-кишкового тракту;

6) стимулює вироблення антитіл імунітету, допомагає боротися з алергією.

Гриб сприяє комплексну дію на організм, зміцнюючи при цьому імунітет, відновлює працездатність і роблячи це без шкоди для інших органів [12, 13].

Лікарі використовують лінчжі для профілактики онкології, вважаючи, що гриб уповільнює розвиток пухлин і метастаз, пригнічує алергію і зміцнює імунітет, допомагаючи організму боротися із злоякісними процесами [24].

Незважаючи на величезний перелік корисних властивостей, гриб має свої протипоказання у застосуванні. До складу лінчжі, як називають його китайці, не входить нічого, що може привести до отруєння або викликати алергію. Однак при вирощуванні екстенсивним методом без належної (стерильної) обробки субстратів може акумулювати у своїх плодових тілах отрутохімікати або інші шкідливі речовини, що може вплинути на якість його продукції [21, 33].

Плоди рейши відрізняються тим, що вмить вбирають усе, з субстратів, при чому: як корисні речовини, так і небезпечні хімічні сполуки. В цьому і полягає основна шкода рейши, а протипоказання пов'язані зазвичай з лікувальної дієтою, якої дотримується людина.

Якщо їй не можна вживати інші гриби, наприклад, при захворюваннях підшлункової залози, то і трутовик знаходиться під забороною [41, 42].

Не можна забувати, що будь-які гриби – продукт, який важко засвоюється організмом. Тому вживати їх кожен день або у великих кількостях не рекомендується.

1.1. Поживні середовища для отримання міцелію базидіальних грибів

Склад поживних середовищ та умови вирощування найважливіші критерії як для виробництва продуктів різного мікробіологічного походження, будь то дріжджі, бактерії, так і для виробництва плодових тіл целюлозоруйнівних грибів. Використовуване поживне середовище має бути повноцінним за своїм складом і недорогим. Отже, поживне середовище повинне містити у своєму складі необхідні джерела живлення: вуглець, азот, фосфор, вітаміни, неорганічні з'єднання, що містять у своєму складі калій, натрій, кальцій, магній, залізо, сірку, фосфор, марганець, цинк, кобальт, молібден, мідь, бор та ін. Присутність вітамінів в поживному середовищі позитивно впливає на ростовий якості культури базиміцетів, тобто вітаміни є стимулятор росту для культури. н.айбільш вагомою вимогою до поживного середовища є його абсолютна стерильність [2, 7].

В якості поживних субстратів для культивування Ganoderma Lucidum використовують дрібно подрібнені гілки і стебла дерев, зерно в натуральному виді або у вигляді екстрактів [7, 10].

Засвоєння поживних речовин можливе тільки за певних значеннях pH, а також від цього значення залежить проникність клітинної оболонки. Культура гриба Ganoderma Lucidum розвивається при значенні pH від 4,5 до 6,0. Зміна pH при культивуванні може варіюватися як в лужний , так і в кислий бік, залежно від джерел живлення Для зростання грибів важливе значення температурного оптимуму. Зазвичай оптимум для розвитку грибів лежить в діапазоні від 22 до 30 °C. Для Ganoderma Lucidum оптимальною є температура, що становить 28 °C [19, 30].

Мінімальна температурна величина для розвитку грибів 0-5 °C. При пониженні температури нижче мінімальною відбувається зупинка росту та розвитку культури і поживн речовини витрачаються на підтримку життєздатності культури. Проте, культури можна таким чином зберігати, але при багатократному використанні, що має на увазі розморожування, а потім знову охолодження, культура гриба зазнає механічні ушкодження, за рахунок переходу води з рідкого стану в кристалічний Цей перехід згубно діє на клітини. Для розвитку міцелію і відмінного проростання спор грибів потрібна підтримка заданного значення вологості. Оптимальне значення вологості залежить від складу середовища, наприклад, при вирощуванні Panellus serotinus на субстраті з пшеничних висівок оптимальне значення вологості складає 58–60% Якщо ж вологість перевищує оптимальне значення, то розвиток грибів припиняється [25].

На розвиток грибів значний вплив роблять умови освітленості. Недоста тнє освітлення сприяє затримці спороутворення. Негативний вплив на зростання грибів роблять прямі сонячні промені, а також на їх активність при тривалому зберіганні [8].

За типом харчування базидіоміцети G. frondosa відноситься до сапротрофами. Сапротрофами від грецького "sapros" - гнилої і "phyton" -

рослина. Відповідно, G. frondosa харчується з урахуванням розказаного вище, як на деревині здорового дерева, так і відмерлих деревних відходах, допомагаючи в розкладанні. На здорової деревині G. frondosa розвиваючись, утворює білу гниль, тим самим поступово руйнуючи дерева. Біла гниль розкладає деревину поступово, спочатку дуже повільно, в міру її розвитку деревина набуває білястого відтінкук, стає пористої і на місцях уражених ділянок утворюються чорні смуги. Гриби викликають дану різновид гнилі вражають деревину твердих порід: бук, дуб, клен, каштан і т.д. Дерево руйнівна активність грибів проявляється в здатності розкладати целюлозу і лігнін, вони є безпосередніми елементами складу деревини. Целюлоза є молекули, об'єднані в міцели, які в свою чергу утворюють фібрили. Вона має високу стійкість до теплових впливів. Розкладання целюлози відбувається при 275 ° С. Целюлоза гідролізується, перетворюючись на моносахариди. За жорсткість і твердість деревини відповідальність несе лігнін, він є колоїдним розчином. При дії дерево руйнівних грибів першим руйнується найчастіше лігнін, а потім вже і целюлоза [23, 35, 43].

1.2. Різні типи культивування базидіальних грибів

Методи культивування поділяються на поверхневі та глибинні. Вибір того чи іншого методу залежить від кінцевої мети культивування. Кінцевою метою може бути або накопичення біомаси, або виділення продукту життєдіяльності метаболізму [46, 47].

Суть поверхневого культивування полягає у вирощуванні культури гриба на поверхні різних за агрегатним станом неагарізованних поживних середовищ. При цьому культура отримує кисень безпосередньо з повітря. Отже цим методом отримують культуру аеробних мікроорганізмів. При вирощуванні на рідкому середовищі на поверхні утворюється плівка міцелію. Однак при такому способі вирощування міцелій продукує не тільки ферменти, а також органічні кислоти, які в свою чергу інгібують дані ферменти. Тому найбільш вигідним є використання щільних субстратів, що

складаються з висівок, тирси або стружок, картопляної мезги, дробини барди і багато чого іншого [51].

Найбільш поширеним неагаризованим середовищем вирощування використовують відварені пшеничні висівки, як основний компонент середовища, з додаванням різних солей, що містять кальцій, фосфор, магній, а також основні поживні елементи – вуглець і азот у співвідношенні 7:1, що забезпечують інтенсивний розвиток культури і біосинтез кінцевого продукту.

Вирощування базадіальних грибів здійснюється на щільних поживних середовищах з використанням різних добавок, розпушують субстрат, а також із застосуванням примусової аерації [53, 55].

Важливою умовою для культивування є стерильність поживного середовища. Дотримання даної вимоги досягається наступним чином, якщо середовище містить подрібнені деревні стружки або тирсу, пшеничні висівки, зерно, то для дотримання стерильності середовища застосовують стерилізацію парою під тиском 2 атмосфери з подальшим кип'ятінням води при температурі 134 °С протягом півгодини [54].

Вирощування на щільному поживному середовищі відбувається з контролем оптимальних параметрів температури, pH, вологості та освітлення. Мета методу полягає в отриманні міцелію гриба на поверхні субстрату [31, 32].

Поверхневий спосіб вирощування грибів має перевагу: під час вирощування гриба перемішування субстрату не відбувається, отже, якщо і є якесь забруднення [51], то інфікування спостерігається лише на ділянці з забрудненням, тобто місцеве інфікування (рис. 1.1)

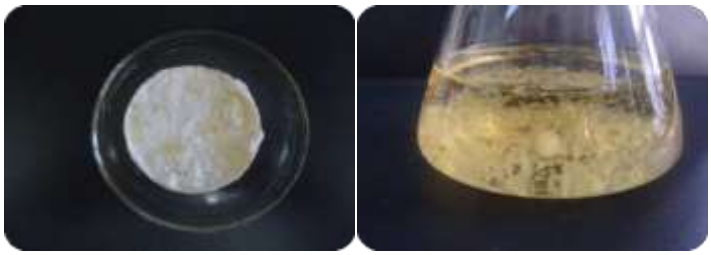

Рис. 1.1 Поверхневе та глибинне культивування міцелії Рейші

Недоліки поверхневого способу:

1. Стерилізація усіх компонентів, що беруть участь у культвації: середовища, повітря і обладнання;

2. Складність механізації процесу;

3. Собівартість культури-продуцента;

4. Чи може бути тільки періодичним.

1.3. Твердофазне культивування базидіальних грибів

При глибинному культивуванні вирощування культури відбувається при зануренні його в рідке поживне середовище. Глибинне культивування є найбільш перспективним у порівнянні з поверхневим.

Для того щоб поживні речовини і кисень надходили до всіх клітин міцелію, необхідно механічне перемішування і безперервна аерація, які одночасно створюють сприятливі умови для зростання і накопичення біомаси продуктів метаболізму [84, 87].

Глибинне культивування відбувається строго в певних умовах, відповідних фізіологічним потребам гриба, з дотриманням стерильності на всіх етапах ферментаційного процесу. Глибинний процес вирощування є більш економічним. При його застосуванні значно скорочується термін ферментації і збільшується кількість отриманого продукту [78]. Однак глибинний метод потребує спеціального дорогого обладнання з чітким дотриманням сурових вимог ферментаційного процесу, з подачею великої кількості стерильного повітря. Безперервне культивування в 3-4 рази прискорює адаптацію в порівнянні зі стаціонарною культурою та сприяє селекційності більш активних рас (див. рис. 1.1).

Для вирощування грибів, які є аеробами, в глибинних шарах рідкої культури потрібна додаткова аерація, так як гриби використовують тільки розчинений кисень. Швидкість переходу кисню в розчин збільшується зі збільшенням поверхонь розділу між газовою і рідкою фазами, а також з підвищенням парціального тиску O_2 в газовій фазі [80]. Для збільшення поверхоні розмежування фаз в тонкому шарі, необхідно застосовувати перемішування рідини шляхом струшування (прямого або кругового), з

обов'язковим обертання судин навколо їх поздовжньої осі, механічне перемішування, пропускання повітря через рідину під тиском за допомогою газорозподільні (рис. 1.2).

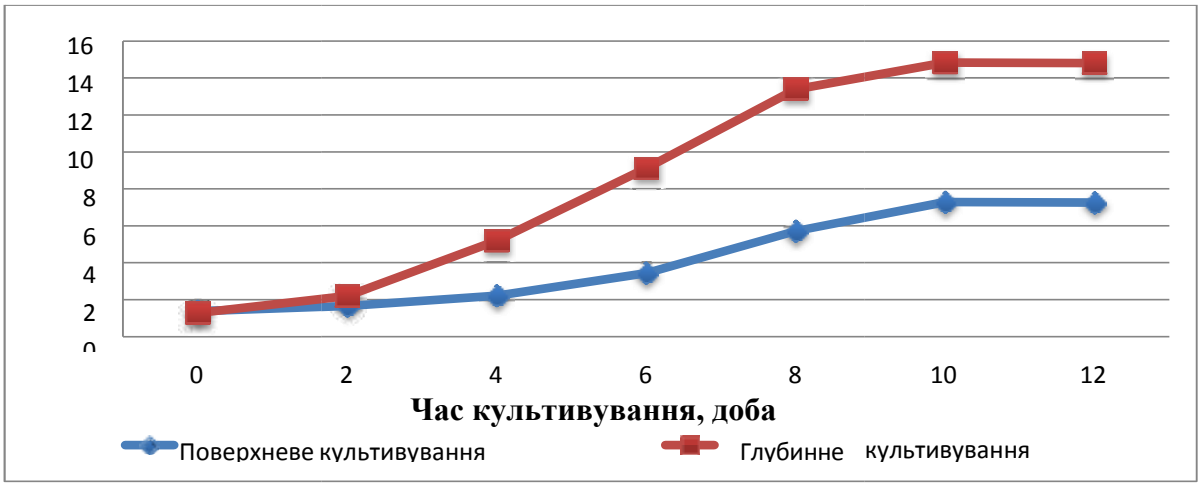

Рис. 1.2 Динаміка накопичення біомаси міцелієм гриба Рейші при поверхневому та глибинному методі культивації

В лабораторних умовах досить часто використовують вирощування наступними способами:

зі струшуванням;

1) - на поступальній гойдалці;
2) - в судинах різної ємності з відбійниками;
3) - з барботажем через середовище повітря без додаткового перемішування середовища;
4) - в ферментаторах невеликої ємності (1 – 10 л) з аерацією повітрям і механічним перемішуванням.

У промислових умовах вирощування виробляють в ферментерах або системі ферментаторів, що досягають в обсязі від декількох тисяч до декількох десятків тисяч літрів [85, 89].

Таблиця 1.1. – Швидкість росту міцелію гриба Рейші залежно від типу середовища

Гриб	Поживне середовище	РК	СР, мм/доб.±Δ
Рейші	ГПС	–	7,5±0,2
	СА	52,0	5,7±0,2

Аналіз показників коефіцієнту росту на агаровому середовищі

показав, що Рейші володіє РК 52,0, тим самим його можна віднести до повільно ростучих видів міцелію.

В якості основних компонентів для приготування субстратів використовували березові тирсу (ступінь подрібнення 5-10 мм), березову стружку (ступінь подрібнення 10-20 мм), лушпиння вівса і подрібнені гілки обліпихи зі ступенем подрібнення 5-10 мм і 10-20 мм, відповідно . Подрібнені гілки обліпихи отримували на садовому подрібнювачі. Для приготування субстратів використовували рослинні компоненти, представлені в таблиці 1.2.

Таблиця 1.2. – Склад рослинних субстратів для культивування культури гриба Рейші

Рослинні компоненти	Зразок субстратної суміші							
	1	2	3	4	5	6	7	8
Тирса листяних порід, фракція 5-10 мм)	28,0	–	–	–		–	14,0	28,0
Тирса фруктових порід, фракція 5-10 мм)	–	28,0	–	–		–	–	–
Лушпиння вівса	–	–	28,0	–	28,0		28,0	14,0
Тирса листяних порід, фракція 10-20 мм)	–	–	–	28,0		–	–	–

До вище перерахованих субстратів додавали ЕМ Бокаші – 7,5%, глюкозу - 0,2%, $CaCO_3$ - 0,4%, KH_2PO_4 - 0,2%, $MgSO_4 \times 7H_2O$ - 0,2% та воду 64,2% [82].

Проведені нами дослідження показали, що швидкість росту міцелію гриба Рейші залежить від складу рослинного субстрату. На рис. 1.3 представлений графік, що відображає залежність розміру діаметра колоній від часу культивування.

При культивуванні гриба Рейші на рослинних субстратах було виявлено, що цей штам добре росте на всіх субстратах, за винятком зразка №7, зріст якого, в порівнянні з іншими субстратами був низький, і діаметр колоній досяг 5,6 см на 20 добу культивування.

Для масового вирощування культур мікроорганізмів використовується метод твердофазного культивування. Метою даного методу може бути виділення самих мікроорганізмів, або продуктів метаболізму, або мікробного зміненого поживного субстрату, який застосовується у виробництві харчових продуктів.

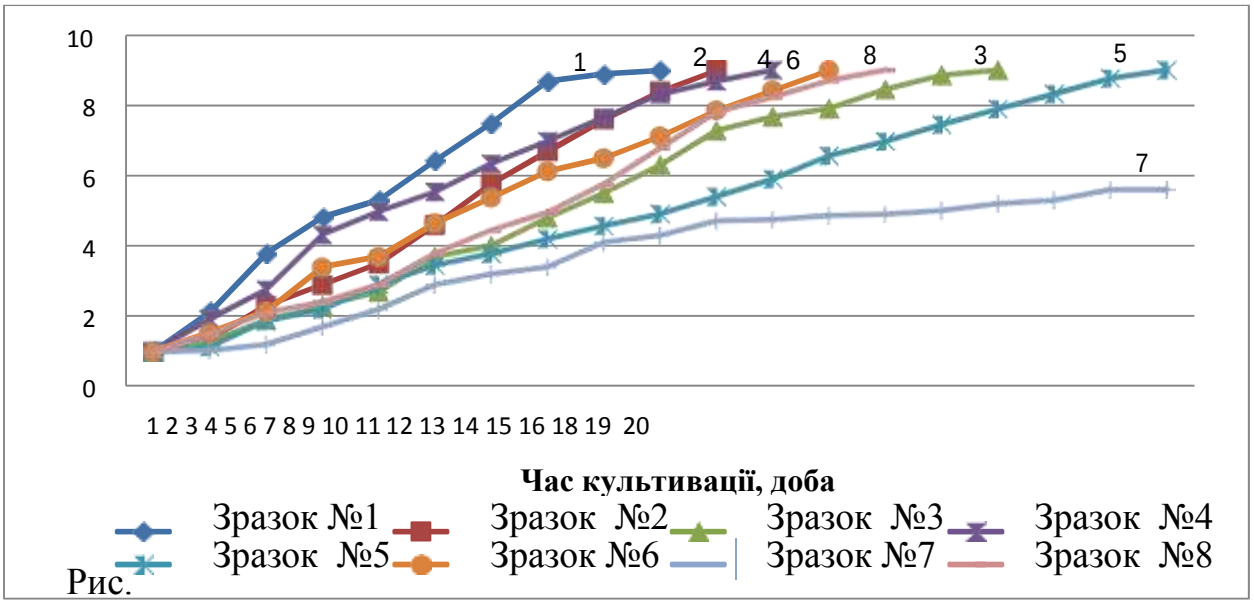

Рис. 1.3 динаміка росту міцелію Рейші на рослинних субстратах

Як видно з рисунку 1.3 на всіх субстратах ріст міцелію був позитивним. Однак найбільш висока колонізація субстрату міцелієм відбувалася в зразку №1, де повне заростання було зафіксовано на 10-ту добу культивування. І трохи пізніше в зразках №2, №4, №6 та №8 на 11, 12, 13 і 14 добу, відповідно. Колонізація субстрату під зразками №3 і №5 здійснювалася значно довше і склала 16 і 20 діб, відповідно.

Аеруєма маса субстрату при твердо-фазному культивуванні може бути гомогенною, або складатися з частинок твердого субстрату [79]. Як описано вище в пункті 1.2. для твердо-фазного культивування найбільш використовуваними є наступні компоненти: подрібнені деревна тирса або

стружки, пшеничні висівки, зерно, солома а також додають різні відходи овочів, фруктів, наприклад моркву.

Твердо-фазне культивування має ряд переваг в порівнянні з культивуванням в рідкій фазі:

1. Вимагають менше витрат на обладнання і експлуатацію;

2. Склад субстрату полегшує відділення і виділення продукту[61, 63, 65].

Однак твердо-фазне культивування викликає і ряд певних проблем:

1. Відсутність перемішування [62].;

2. Зростання мікроорганізмів відбувається за принципом колонізації: у міру розвитку відбувається заповнення всього обсягу від точок внесення мікроорганізму в субстрат.

Існує біореактор з псевдо зрідженим шаром, в даному біореакторі субстрат подається у вигляді псевдо зрідженого об’єму реактора. Повітря, необхідне для аерації подається шляхом циркуляції. Для того щоб не пересушувати живильний субстрат повітря повинне містити необхідний вміст вологи. Даний процес вимагає великої затрати енергії, щоб підтримувати псевдо зріджений шар [66]. Однак такі ферментери забезпечують значно менший обсяг і невеликий вихід продукту в порівнянні з біореактора (рис 1.4). Даний спосіб видалення тепла здійснюється при перемішуванні субстрату, яке досягається

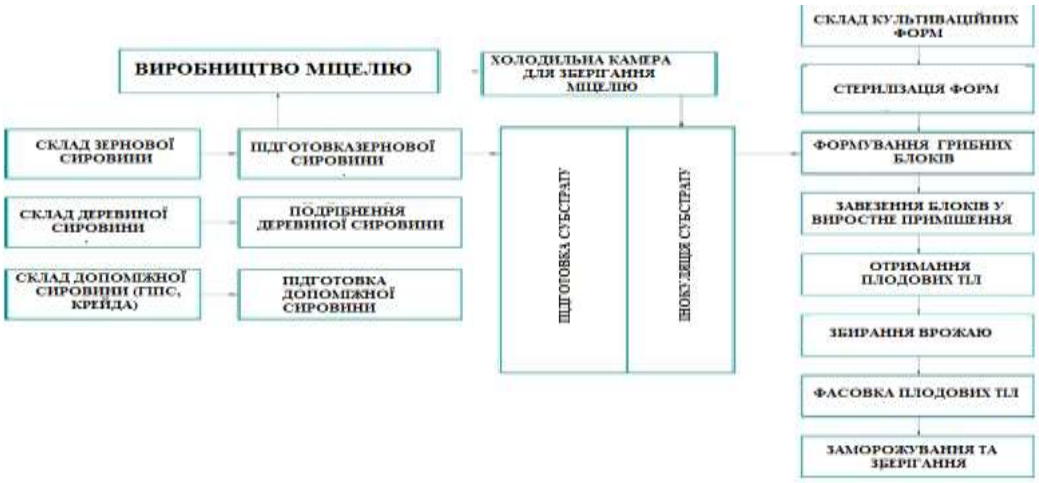

Рис.1.4 Принципова схема вирощування гриба Рейші

обертанням циліндра, при цьому субстрат контактує з оболонкою ємності і виділяє в неї тепло. У біореакторі виникають зусилля зсуву при обертанні, що призводить до руйнування грибкових структур, зокрема міцелію. Проблема зневоднення субстрату вирішується застосуванням вологого повітря, так як немає необхідності випаровувати з субстрату воду. Крім того використовуються розподільні насадки, зволожуючі субстрат, забезпечуючи хороший розподіл вільної води [49].

Однак і такий тип ферментаторів має недоліки і найголовнішим з них є висока собівартість даного обладнання.

1.4. Вітаміни та їх роль в гомеостазі організмів

Відкриття вітамінів пов'язано з вивченням впливу різних харчових речовин на життєдіяльність організму. Першим хто звернув увагу на те, що крім води, мінеральних речовин, білків, жирів і вуглеводів, організму необхідні і інші фактори харчування, без яких він захворіє і загине, був російський вчений А. Морозов [37].

На ріст і розвиток грибів вітаміни надають здебільшого стимулюючу дію. В даний час біологічна роль вітамінів ще мало вивчена на базидіоміцети, але судячи за наявними літературними даними, вона дуже значна [22, 23]. У зв'язку з цим доцільно дослідити вплив вітамінів на процес отримання міцелію їстівних грибів.

1.5. Стан промислового культивування грибів в Україні

У нашій країні грибництво на промисловому рівні налічує всього 55 років свого існування. Так як ця відносно молода галузь сільського господарства, яка не отримала самостійного розвитку в порівнянні з європейськими країнами.

Середина 70-х років характеризувалася розвитком овочівництва в Україні, будівництвом теплиць і грибничих комбінатів. Тільки в період з 1975 року по 1995 в країні було побудовано 8 грибничих комплексів, розміщених навколо великих промислових центрів [15, 16]. Однак основною

продукцією цих підприємств були печериці та гливи, а також продукти їх переробки.

Такі підприємства мали на увазі зміст повного технологічного процесу культивування грибів. Такий процес включав наступні стадії:

1. приготування субстрату;
2. приготування посівного матеріалу;
3. культивування грибів;
4. збір грибів;
5. реалізація вирощеного врожаю.

Всі стадії вирощування грибів були повністю автоматизовані. Була розроблена система вентиляції і кондиціонування повітря, водопостачання та забезпечення теплом, а також автоматизовані і регульовані параметри мікроклімату.

У 1980 році виробництво грибів становило 1,5 мільйона тонн, а в 2010 році - 8,5 мільйона тонн грибів на рік. Основний вирощуваної культурою серед цих даних були печериці, вони становили 85% від всього виробництва грибів в Європі [38, 50].

Темпи зростання обсягів виробництва в Росії є вкрай низькими. За даними на 2011 рік виробництво печериць склало 8,5 тис. Тонн, глива - 4,0 тис. Тонн і 0,5 тис. Тонн на інші види грибів [45]. Якщо враховувати споживання грибів в рік на душу населення, то доцільним було б вийти на такий рівень по виробництву грибів, що становить 300 000 тонн на рік. Однак для збільшення виробничих потужностей необхідні великі капіталовкладення і це є основним стримуючим фактором від російського виробництва грибів.

Споживчий попит на споживання грибів з кожним роком неухильно зростає. Це пояснюється високими поживними і смаковими якостями грибів, які є цінними джерелами білка. Наприклад, до складу печериць входить 17 незамінних амінокислот, необхідних для побудови клітин людини. Відомо, що клас грибів більше близький до тварини, ніж рослинному. Гриби не можуть синтезувати білки, вони отримують їх як вихідний компонент з

субстрату, на якому вони виростають [58]. Гриби є природними адсорбентами, саме завдяки цій властивості вони здатні накопичувати токсини, які в подальшому при споживанні, викликають у людини отруєння. Тому в даний час стає ця проблема актуальною, так як з кожним роком зростає рівень хімічного та радіаційного забруднення навколишнього середовища.

Культивування грибів дозволяє вирішити цю проблему, так як це відносно екологічно чисте виробництво, а також безпечне для людини і містить велику кількість повноцінного білка, який є дефіцитним в сучасному раціоні людства.

1.6. Промислове виробництво антибіотиків

Антибіотики (від грец. Ἀ ντί «проти» + βίος «життя») – речовини, що пригнічують ріст живих клітин, найчастіше прокаріотичних або найпростіших. У сучасній науці і в документах (ВООЗ та інших організацій) назва «антибіотики» не використовується, замість нього використовується більш коректне назву цієї групи лікарських речовин – «протимікробні препарати» [53, 59].

Повністю синтетичні препарати, що не мають природних аналогів і надають подібне з антибіотиками переважна вплив на ріст бактерій, традиційно було прийнято називати не антибіотиками, а антибактеріальними хіміопрепаратами [6, 60].

Деякі антибіотики використовуються в якості протипухлинних препаратів при лікуванні онкологічних захворювань. Антибіотики зазвичай не впливають на вірусні клітини, а тому не приносять користі при лікуванні захворювань, що викликаються вірусами (наприклад, таких як грип, гепатити А, В, С, вітряна віспа, герпес, краснуха, кір). Однак ціла низка антибіотиків, в першу чергу тетрацикліни, діють також і на великі віруси [20, 44].

Величезна різноманітність антибіотиків і видів їх впливу на організм людини стало причиною класифікування і поділу протимікробних препаратів на групи (рис. 1.5).

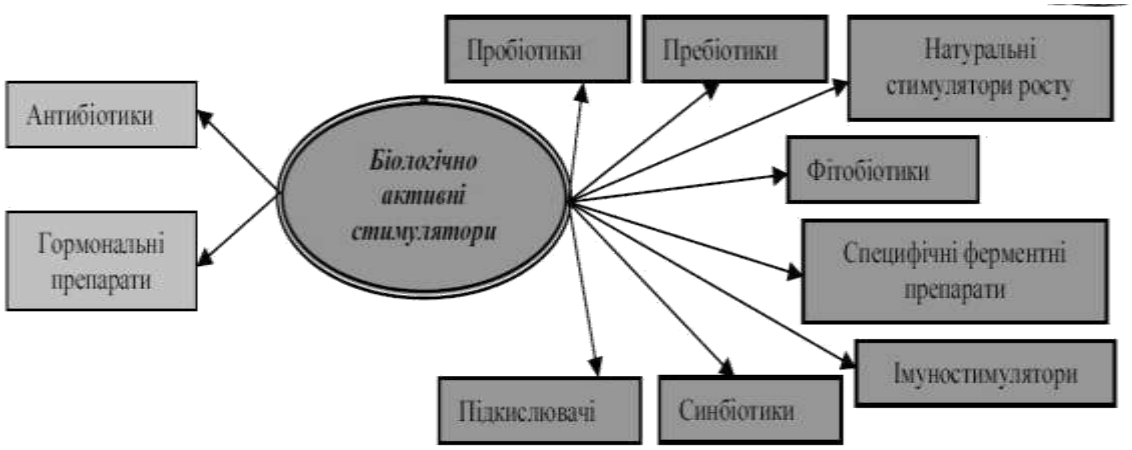

Рис. 1.5. Класифікація біологічно активних стимуляторів.

За характером впливу на бактеріальну клітину антибіотики можна розділити на дві групи:

1) Бактеріостатичні (бактерії залишаються живі, але не в змозі розмножуватися),
2) бактерицидні (бактерії гинуть, а потім виводяться з організму).

Класифікація за хімічною структурою, яку широко використовують в медичному середовищі, складається з наступних груп:

1. Бета-лактамні антибіотики, що діляться на три підгрупи:

2. Пеніциліни – виробляються колоніями цвілеві грибки Penicillinum;

3. Цефалоспорини – мають схожу структуру з пеніцилінами. Використовуються по відношенню до пеніциліностійких бактеріям.

4. Карбапенеми – структура більш стійка до лактамазам, ніж у пеніцилінів і цефалоспоринів, що значно розширює спектр дії.

5. Макроліди – антибіотики зі складною циклічною структурою. Дія – бактеріостатична.

6. Тетрацикліни – використовуються для лікування інфекцій дихальних і сечовивідних шляхів, лікування важких інфекцій типу сибірської виразки, туляремії, бруцельозу. Їх дія переважно - бактеріостатична.

7. Аміноглікозиди – мають високу токсичність. Використовуються для лікування важких інфекцій типу зараження крові або перитонітів. Дія бактерицидна.

8. Левоміцетин – використання обмежене через підвищеня небезпеки серйозних ускладнень – ураження кісткового мозку, який виробляє клітини крові. Дія бактеріостатична.

9. Глікопептидні антибіотики порушують синтез клітинної стінки бактерій. Надають бактерицидну дію, проте відносно ентерококів, деяких стрептококів і стафілококів діють бактеріостатично.

10. Лінкозаміди надають бактеріостатичну дію, що обумовлено пригніченням синтезу білка рибосомами. У високих концентраціях відносно високочутливих мікроорганізмів можуть проявляти бактерицидний ефект.

11. Фторхінолони – ципрофлоксацин, норфлоксацин, офлоксацин, пефлоксацин, ломефлоксацин, спарфлоксацин, левофлоксацин, моксифлоксацин, геміфлоксацін, гатифлоксацин, сітафлоксацін, тровафлоксацин, делафлоксацін.

12. Антибіотики різних груп – Рифаміцин, Фузидин-натрій, Поліміксину М сульфат, поліміксину В сульфат, Граміцидин, Геліоміцін, Циклооктасульфур [52].

Сьогодні виділяють нову групу препаратів – фітобіотики, котрі препарати, які використовуються на практиці замість кормових антибіотиків і забезпечують або той же ефект, або менш виражений, але в будь-якому випадку зводять нанівець всі негативні моменти, які пов'язані з антибіотиками. Весь світ відмовляється від антибіотиків в їх користь, тому що іншого виходу немає.

РОЗДІЛ 2.
ХАРАКТЕРИСТИКА ВИРОБНИЧИХ ПОТУЖНОСТЕЙ ТОВ «ЕМ УКРАЇНА» ТА ПРИРОДНЬО-КЛІМАТИЧНИХ УМОВ.

Дослідження проводилося в умовах ТОВ «ЕМ УКРАЇНА», в період з 2018 по 2020 роки

2.1.Організаційно-економічні умови господарства

Товариство з обмеженою відповідальністю: ««ЕМ Україна» єдиний офіційний ліцензований представник EMRO Японії (EM Recearch Organisation INC) на території України, що виробляє біопрепарати на основі ефективних мікроорганізмів. В 1988 році японським професором Теруо Хіга була розроблена найефективніша у світі, проста в застосуванні, економічна та екологічна система, яка отримала назву "Технологія ефективних мікроорганізмів.

Марка ЕМ являє собою лінію мікробіологічних продуктів, які використовуються більш ніж в 100 країнах світу в багатьох галузях, включаючи землеробство, тваринництво, екологію та побут .

Серед продуктів компанії – лінійка для захисту і живлення рослин, підвищення родючості ґрунтів, біопрепарати для тваринництва, переробки відходів, компостування створення та підтримка іноваційних проектів. Використовуючи сучасну технологію ефективних мікроорганізмів, споживач продукції зможе вирішити проблеми з утилізації і переробки комунальних, промислових відходів та очистки стічних вод.

ТОВ «ЕМ Україна» пропонує українському споживачу традиційно високу японську якість, сучасні технологічні рішення та кваліфікований технічний супровід, який виведе Ваше виробництво на європейський рівень сертифікації.

Продукція компанії дозволена для використання в органічному землеробстві, що підтверджується сертифікатом Organic Standard.

ЕМ-препарати – це інноваційні технології майбутнього, які працюють вже сьогодні.

* EM, EM Logo, EM Technology, EM • 1, EM • X, тощо є торговими марками та зареєстрованими товарними знаками тільки компанії EMRO та її дочірніх компаній».

Компанія проводить наукові дослідження, спрямовані на пошук інноваційних рішень застосування ефективних мікроорганізмів в різних галузях народного господарства. Беззаперечної окрасою наукового напрямку є купольна теплиця. Також за компанією закріплено 5,1 га, у тому числі рілля –1,1га, перелоги – 0 га, багаторічні насадження (сади) –0 га, сіножаті –0 га, пасовища –0 га, під господарськими будівлями і дворами – 4,0 гектара. Землі господарства розташовані на 2-х відокремлених земельних масивах.

Рельєф рівнинний з нечисленними западинами. Масиви орних земель компактні. Структура земельних угідь приведена в табл. 2.1.

Таблиця 2.1. – Структура земельних угідь ТОВ «ЕМ Україна»

Назва угідь	Площа, га	%
Рілля	1,1	21,6
Багаторічні насадження	0	0
Дороги	0	0
Інші землі	4,0	78,4
Всього угідь	5,1	100

Усі ґрунтообробні знаряддя та сільськогосподарська техніка розташовані у спеціалізованій тракторній бригаді, а їх кількість на підприємстві наведено в табл. 2.2.

Крім сільськогосподарської техніки в господарстві є два вантажних автомобілі та один спеціалізований. На підприємстві очищення зерна після обмолоту проводять на пересувних зерноочисних машинах ОВС-25 та ОВП-20А.

Таким чином, організаційно-господарські умови, які склалися у господарстві відносно сприятливі для вирощування основних сільськогосподарських культур.

Таблиця 2.2. – Склад сільськогосподарської техніки ТОВ «ЕМ Україна»

Марка машини	Кількість, шт.	Марка машини	Кількість, шт.
Трактори-всього в т.ч. колісні: Т-150К МТЗ-80 МТЗ-1025	6 6 2 2 2	Сівалки-всього в т.ч. СЗ-3,6А СУПН- 8	3 2 1
		Розкидачі добрив в т.ч. 1-РМГ-4	1 1
Комбайни-всього Дон-1500Б	2 2	Ґрунтообробні знаряддя в т.ч. КПС-4,0 КРН-5,6 БДТ-6,0 ПЛН-5-35 ПЛН-3-35 3ККШ-6	12 3 2 1 2 1 3
Обприскувачі-всього в т.ч.ОП-2000	1 1		

Економічна ефективність вирощування перспективних сортів сільськогосподарських культур у господарстві характеризується врожайністю, виробничими витратами на 1 га посівів, умовно-чистим доходом, собівартістю вирощеного врожаю та рівнем рентабельності (табл. 2.3).

Таблиця 2.3. – Показники економічної ефективності вирощування сільськогосподарських культур у ТОВ «ЕМ Україна» (середнє за 2018-2020 рр.)

Виробничі витрати на 1 га, грн.	Умовно-чистий дохід на 1 га, грн.	Собівартість 1 ц вирощеної продукції, грн.	Рівень рентабельності, %
4897,6	1165,7	1959,0	23,8

В середньому 2018-2020 рр. виробничі витрати при вирощуванні сільськогосподарських культур у господарстві становили 4897,6 грн/га, а умовно-чистий дохід склав 1165,7 грн/га за рівня рентабельності

виробництва 23,8 %. В цілому найбільш рентабельним у господарстві було вирощування перспективних та районованих сортів та гібридів кукурудзи, озимої пшениці та ярого ячменю Найменший показник умовно-чистого доходу отримали при вирощуванні ранніх ярих зернових культур, що пов’язано з низьким рівнем їх продуктивності.

Отже, вирощування сільськогосподарських культур у ТОВ «ЕМ Україна»» за останні п’ять років є досить прибутковим, але рівень умовно-чистого доходу та рентабельності не дозволяє отримати достатню кількість оборотних засобів для збільшення земельних площ компанії.

2.2. Коротка характеристика ґрунтово-кліматичних умов

Клімат Кіровоградської області: «континентальний, помірно теплий, характерний для середньої широти України. За тепловими ресурсами і умовами зволоження Кіровоградська область умовно поділена на три підрайони: теплий, недостатньо зволожений, до якого відноситься вся лісостепова частина, дуже теплий, помірно посушливий, до складу якого входить південна, степова частина області, а також перехідна смуга» [29].

Опади протягом року розподіляються дуже нерівномірно. Найменше випадає їх в зимові місяці, і тільки з квітня по липень кількість їх збільшується. Найбільше їх випадає в червні – липні у вигляді зливових дощів. Починаючи з серпня, знову спостерігається зменшення опадів, що триває до кінця року. Тому в умовах Кіровоградської області, особливо в південній і південно-східній частині її, періодично відчувається недостача ґрунтової вологи. В більшості випадків це явище спостерігається в період цвітіння і дозрівання сільськогосподарських культур [29].

Умови зволоження ґрунтів значно погіршуються ще й тим, що в зв'язку з сильно розчленованим рельєфом значна кількість опадів на схилах марно втрачається, стікаючи в знижені елементи рельєфу. Тому заходи по нагромадженню, збереженню і ефективному використанню ґрунтової вологи в умовах області набувають надзвичайно великої ваги, в землеробстві. В умовах плато ґрунти характеризуються трохи кращим

зволоженням, однак і тут в окремі роки запаси продуктивної вологи бувають недостатніми, особливо в південно-східній частині області.

Таблиця 2.4. – Агрометеорологічні показники періоду проведення досліджень (за даними метеопоста Кіровоградського ГМЦ)

Показник		Місяці						Квітень - вересень
		IV	V	VI	VII	VIII	IX	
Середньодобова температура повітря, ºС	2019	10,1	17,5	23,0	20,7	21,1	16,3	18,1
	2020	9,1	13,2	21,5	22,5	21,8	18,5	17,8
	середньо-багаторічні	8,9	15,3	18,6	20,0	19,4	14,7	16,2
Сума опадів, мм	2018	37	54	27	24	16	20	178
	% до норми	102,8	120,0	40,9	33,3	33,3	52,6	58,4
	2019	6	82	37	29	0	58	212
	% до норми	16,9	182,2	56,1	40,3	0	152,6	69,5
	середньо-багаторічні	36,0	45,0	66,0	72,0	48,0	38,0	305,0

Сніговий покрив неглибокий, нестійкий, недовготривалий. Встановлюється він в першій декаді грудня і утримується до другої декади березня, причому в окремі роки під час тривалих відлиг з інтенсивним підвищенням температури сніг повністю розтає [29].

Число днів з такими вітрами протягом року близько 26. Ймовірність років з слабкими суховіями на території області 100%, середньої інтенсивності – в лісостеповій частині – 95%, в степовій – 100%, з інтенсивними суховіями – в Лісостепу 65%, в Степу – 80%, з дуже інтенсивними – відповідно 25% і 40%.

РОЗДІЛ 3
МЕТОДИ ОТРИМАННЯ КОРМОВИХ АНТИБІОТИКІВ

3.1. Методика вирощування гриба Рейші

Схема досліду солом’яні субстрати Рейші:

1) Замочування солом’яного субстрату у воді з додаванням вапна в кількості 1 г / л при температурі навколишнього середовища 25 ºС протягом 36 годин (контроль);

2) Замочування солом’яного субстрату у 1,5% робочому розчині ЕМ Біоактив при температурі навколишнього середовища 25 ºС протягом 36 годин;

3) Замочування солом’яного субстрату у 1,5% робочому розчині ЕМ Агро при температурі навколишнього середовища 25 ºС протягом 36 годин;

4) Замочування солом’яного субстрату у 1,5% робочому розчині ЕМ 5 при температурі навколишнього середовища 25 ºС протягом 36 годин;

5) Замочування солом’яного субстрату у 1,5% робочому розчині ЕМ Бокаші при температурі навколишнього середовища 25 ºС протягом 36 годин.

Облікова одиниця один мішок розміром 35х90 см, наповнений субстратом (7 кг). Повторюваність трьохразова.

3.2. Методи дослідження

У роботі використовували різні види тритерпенів: дигідрокверцетин; біофлавоноїди, рутин і препарат під торговою маркою «ТОВ "Ворвартс Фарма"» метаболіти грибів Ganoderma Lucidum, надані співробітниками компанії, а також ізоляти з соломяних субстратів грибного виробництва. Контрольні культури E. coli ATCC 25922 і K. pneumoniae ATCC 13883; клінічні штами E. coli 11/1, K. pneumoniae 24/4. Субстанції антибіотиків: амоксициліну тригідрат, меропенем тригідрат. цефазоліну натрієва сіль, ципрофлоксацину гідрохлорид.

Середовище ГМФ-агар, ГМФ-бульйон, Набір для забарвлення по Граму, Пробка ватно-марлева; «ДНК-ЕКСПРЕС», ТАЕ-буфер (НПФ Літех,

РФ); о-нітрофеніл-β-D-галактозид (діам, РФ); Sorbifil (ТОВ «имид», РФ); 2-меркаптоетанол, реактив Фолина-Чокальтеу, ТЕМЕД (Acros Organics, США); Кислота трихлороцтова (AppliChem, Німеччина); Гліцин (Panreac, Іспанія); Кислоти лаурілсерной натрієва сіль, Ксантину натрієва сіль, ксантиноксидази, Кумассі G-250, реактив Бредфорда, Цитохром С (SIGMA-ALDRICH, Німеччина); Амоній надсірчанокислий (ГОСТ 20478-75); Бромфеноловий синій (ТУ 6-09-3719-83); Вода дистильована (ГОСТ 6709-72); Гліцерин (ГОСТ 6824-96); Диски з фільтрувального паперу (ГОСТ 12026-76); Залізо сірчанокисле (ГОСТ 4148-78); Калій фосфорнокислий однозаміщений (ГОСТ 4198-75); Калій фосфорнокислий двозаміщений (ГОСТ 2493-75); Калій хлористий (ГОСТ 4568-95); Кислота сірчана (ГОСТ 4204-77); Кислота оцтова (ГОСТ 61-75); Кислота хлорводнева (ГОСТ 3118-77); Магнію сірчанокислого гептагідрат (ГОСТ 4523-77); Марля (ГОСТ 9412-93); Міді сульфат пентагідрат (ГОСТ 4165-78); Мембрани «Владіпор» типу МФА-МА (ТУ 6-05-1903-87); Метанол (ГОСТ 2222-95); Набір для фарбування за Романовським-Гімзою; Натрій азотнокислий (ГОСТ 4168-79); Натрій хлористий (ГОСТ 4233-77); Натрію гідоокісь (ГОСТ 4328-77); Водню перекис (ГОСТ 177-88); Сахароза (ГОСТ 5833-75); Тріс (ТУ 6-09-4292-76); Фільтр паперовий (ГОСТ 12026-76); Фільтр ватно-марлевий (ГОСТ 22379-93); Хлороформ (ТУ 2631026-78119972-2010); ЕДТА (ГОСТ 10652-83); Етанол (ГОСТ 5962-2013); Етилацетат (ГОСТ 22300-76) [17, 48, 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74].

Ультразвуковий дезинтегратор Soniprep 150 (MSE, Великобританія); планшетний фотометр Multiskan EX (Thermo Electron, Німеччина); центрифуга з охолодженням SR 16 (Thermo Scientific, США); камера для вертикального електрофорезу Mini protein (Bio-Rad, США); спектрофотометр СФ 56 (ЛОМО, Росія); ферментер Minifors (Infors, Швейцарія).

Визначення біомаси в культуральній рідині: «Метод широко застосовують для оцінки зростання мікроорганізмів в рідких поживних

середовищах. Можна використовувати його і для визначення маси клітин, вирощених на щільному поживному середовищі, однак в цьому випадку мікроорганізми необхідно попередньо ретельно змити з поверхні середовища фізіологічним розчином або водою і перевести в суспензію. Метод не може бути використаний при культивуванні мікроорганізмів на середовищах, до складу яких входять з'єднання, нерозчинні у воді.

Визначення біомаси складається з трьох послідовних операцій доведення маси центрифужних пробірок або фільтрів до постійного значення, відділення клітин мікроорганізмів від культуральної рідини, визначення їх маси. Найчастіше визначають масу сухих клітин, хоча іноді можна обмежитися визначенням сирої біомаси. В останньому випадку перший етап відпадає досить тільки зважити центрифужну пробірку (фільтр), але не доводити її масу до постійного значення. Біомасу зазвичай висловлюють в грамах або міліграмах на літр культуральної рідини.

Визначення вмісту загального білку у культуральній рідині. Метод базується на виникненні пігментованих продуктів ароматичних амінокислот з реактивом Фоліна в сукупності з реакцією на пептидні зв'язки (біуретовою реакцією) » [81].

Метод визначення загального білку методом Лоурі є високо чутливим (10 - 100 мкг білка в пробі). Розвиток пігментації обумовлюється великою кількістю речовин, серед яких: компоненти буферних систем (трис-буфер в концентрації 0,2 мМ, гліцилгліцін), відновники (цистеїн, дітіотреїтол в концентрації 0,01 - 0,4 мМ, аскорбінова кислота), комплексони (ЕДТА в концентрації 0,5 мМ), детергенти (тритон Х100 в концентрації 0,1 - 0,2% викликає випадання осаду), сірчанокислий амоній в концентрації 0,15%, сахароза в концентрації 10% та ін. Через наявність цих речовин, в розчинник для стандартного білку необхідно включати всі складові, що містяться в досліджуваних пробах за для побудови калібрувального графіку [83].

Кількість білка в досліджуваній пробі пропорційна інтенсивності пігментації комплексу, яка вимірюється спектрофотометричним методом.

Послідовність роботи по визначенню концентрації речовини в розчині:

1) для даної речовини будують калібрувальну криву;

2) вимірюють оптичну щільність досліджуваного розчину та визначають концентрацію речовини у розчині за допомогою калібрувальної кривої.

Реактиви.

- Реактив А: 2% -й розчин Na_2CO_3 в 0,1 н. розчині NaOH.
- Реактив Б: 0,5% -й розчин $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ в 1% -му цитрат натрію.
- Реактив В: готується безпосередньо перед роботою: 49 мл реактиву А + 1 мл реактиву Б.
- Реактив Г: Реактив Фоліна - Чокальтеу:

10 г Na_2MoO_4*$2H_2O$ (перекристалізований) і 2,5 г Na_2MoO_4*2H2O поміщають в колбу з круглим дном об’ємом 200 - 250 мл, додають 70 мл води, ретельно перемішують. До отриманого розчину додають 5 мл 85% -го розчину фосфорної кислоти і 10 мл концентрованої соляної кислоти. Колбу з’єднують зі зворотнім холодильником, поміщують на сітку і кип'ятять протягом 10 годин. Після чого до розчину додають 15 г Li_2SO_4, 5 мл води і одну краплину брому. Розчин інтенсивно розмішують і проводять нагрівання з метою видалення брому. Потім охолоджують і доводять об’єм до 100 мл водою, фільтрують і розбавляють водою, розраховуючи об’єм води так, щоб в результаті отримати 1 н розчин кислоти (приблизно вдвічі).

Для визначення кислотності титрують розведений в 10 разів реактив 0,1 н лугом за присутністю фенолфталеїну. Реактив може зберігатися в темній склянці тривалий час.

Реактив Д: стандартний розчин білку, що містить 0,25 мг в 1 мл розчину.

Реактив Е: розчин білка концентрації Х.

Обладнання: Пробірки, кювети, спектрофотометр.

Хід визначення. За допомогою дистильованої води і стандартного розчину білку готують розчини білку різної концентрації у 4-х пробірках. Також, готують контрольну пробу, що не містить білку. Шоста пробірка повинна містити 0,4 мл розчину білку невизначеної концентрації – Х (див. таблицю 3.1).

Таблиця 3.1. – Приготування розчину білку заданої концентрації

№ проби	Концентрація білка, мг/мл	Об`єм стандартного розчину білка, мл	Об`єм дистильованої води, мл	Загальний об`єм досліджуваної проби, мл
1	0,063	0,1	0,3	0,4
2	0,120	0,2	0,2	0,4
3	0,183	0,3	0,1	0,4
4	0,250	0,4	0	0,4
5(К)	0	0	0,4	0,4
6(Х)	Х	0,4(мг х)	0	0,4

По 2 мл реактиву В додають до кожної з пробірок, після чого інтенсивно перемішують суміш. Після 10 хвилинної витримки додають 0,2 мл реактиву Г Фоліна-Чокальтеу. Реакційну масу розмішують і дають витримку при кімнатній температурі протягом 30 хв.

Інтенсивність забарвлення вимірюють спектрофотометричним методом (довжина хвилі має становити 650 нм).

За допомогою калібрувальної кривої розраховують невизначену концентрацію білку у досліджуваному розчині, відповідну виміряному значенню оптичної щільності [63].

Визначання активної кислотності. Активна кислотність вимірюється на pH-метрі по методиці, викладеній в паспорті, що додається до прибору. Правильність роботи pH-метра перевіряється по буферному розчину з pH 4,0, приготованим з фіксаналів, призначених для приготування образцових буферних розчинів, наприклад 0,05 моль / дм^3 розчину гідрофталату калію ($KC_8H_5O_4$). Активну кислотність визначають pH-метром у суслі, що отримують при фільтруванні затору через паперовий фільтр.

Визначення антибактеріальної дії. Антагоністичну активність штамів досліджують методом лунок – на тверде середовище із колонією мікроорганізмів акуратно поміщають паперові диски, що змочені у розчині із можливою антибактеріальною дією. Культивують мікроорганізми встановлений термін та оцінюють діаметр зони пригнічення росту навколо паперового диску [57]

Статистична обробка результатів. Отримані результати обробляли статистично, використовуючи параметричний метод (t-критерій Стьюдента). Обробка результатів проводилася за допомогою програми Excel.

РОЗДІЛ 4
БАКТЕРІОСТАТИЧНІ ВЛАСТИВОСТІ ГРИБНИХ МЕТАБОЛІТІВ ПРИ ВИРОБНИЦТВІ ТРИТЕРПЕНІВ

4.1. Загальна характеристика умов культивування гриба Ganoderma Lucidum

Нескінченна користь, а також висока вартість дорослих плодових тіл - прекрасний стимул для культивування грибів рейши в штучних умовах. Тому цікавість до цього гриба росте з кожним роком. Ще однією перевагою при вирощуванні Рейши є термін його плодоношення – цілих 5 років!

Однак перед культивуванням його необхідно визначитися з технологію, за якою трутовик будуть вирощувати – екстенсивним чи інтенсивним способом, а також обрати субстрат - на пнях, тирсі чи соломі.

Вирощування на пнях

При використанні екстенсивного способу вирощування будуть потрібні здорові, свіжі пеньки, що раніше не використовувалися в побуті або господарстві. Також для грибів рейши потрібен повноцінний міцелій і правильно підготовлений (стерилізований) субстрат рис. 4.1.

Рис 4.1 Екстенсивний спосіб вирощування Рейши на пнях

Необхідно подбати про місце, в якому буде культивуватися гриб.. Пеньки повинні розташовуватися так, щоб сонячні промені не потрапляли на них безпосередньо. В обраному місці необхідно підтримувати високу вологість повітря [25].

Для вирощування грибів на пнях найкраще підходять листяні і фруктові породи дерев, тоді як хвойні пні для культивації гриба не підходять, адже вони багаті смолами, котрі миттєво знищать ніжний міцелій.

Підготовка субстрату з тирси або соломи включає в себе формування субстратної суміші. До складу якої входять:

1. 80% тирси;
2. 20% допоміжні речовин:
3. 2% гіпсу або крейди (для регулювання кислотності),
4. 18 % висівок (з метою підвищення вмісту поживних речовин).

Однак крейди не можна брати більше 2% від загальної маси. Компоненти добре перемішують і викладають суміш на стерилізацію, при температурі 90 градусів протягом 5 годин.

Після приготування субстрату беруть готову сумішь, розкладають її по ємностям і ставлять на обростання в приміщенні при температурі до 30 градусів тепла. Як тільки сумішь нагріється, приступають до інокуляції її міцелієм. Палички або інші форми міцелію опускають в субстрат, зверху присипають і залишають на 20 днів до проростання рис. 4.2.

Температура в приміщенні в цьому випадку повинна підтримуватися в рамках 18-26 градусів тепла, а також 75% вологості. При різких коливаннях температури або вологості гриби загинуть [25].

Рис. 4.2 Поява плодових тіл

Для ефективного вирощування гриба Рейши необхідне постійне дотримання умов вирощування, тобто підтримувати мікроклімат:

Температура строго від 18-22 до 26 градусів тепла, восени і взимку можна дотримуватися мінімального показника.

Вологість. Припустимо коливання до 3% - від 72 до 78%, але занадто довгі періоди посухи або підвищеної вологості приведуть до проблем формування привабливої товарної продукції (таблиця 4.1)

Таблиця 4.1. – Біологічна продуктивність грибних блоків залежно від способу їх обробки

Вид обробки блоку	Вид гриба	Субстрат	Біологічна продуктивність		
			Середня вага зростку, г	Діаметр шляпки, см	Урожайність I хвилі, г / мішок
1	Рейші	пшениця	625±50	3-5	1600±50
		ячмінь	650±50		1900±50
2	Рейші	пшениця	800±100	5-8	1850±100
		ячмінь	850±100		3400±100
3	Рейші	пшениця	822±100	5-8	2380±100
		ячмінь	855±100		3420±100
4	Рейші	пшениця	555±50	3-5	1900±50
		ячмінь	550±50		2000±50
5	Рейші	пшениця	750±100	5-8	3000±100
		ячмінь	760±100		3020±100

Перевага в урожайності обумовлена перш за все підвищеним вмістом загального азоту та фосфору в субстраті, що сприяло інтенсивному розростанню міцелію та утворенню великої кількості плодових тіл гриба. Маса плодових тіл досліджуваних видів гриба Рейші на ячмінній соломі становила 2000 – 3200; та на пшеничній та 1850 – 3000 г / мішок відповідно, що перевищувало загальну врожайність плодових тіл контрольного варіанта у 1,1–1,5 рази.. Урожайність грибних блоків з використання ЕМ 5 була дещо нижча ніж з використанням ЕМ Агро та ЕМ Біоактив. На нашу думку це зумовлено специфікою самого препарату, адже даний препарат є

комплексним фунгіцидом і цілком ймовірно пригнічував ріст не тільки конкурентної мікрофлори, а й міцелію Рейші. Найбільш ефективним було використання ЕМ Бокаші, котрий забезпечив плодові тіла гриба Рейші достатньою кількістю поживних елементів на обох видах субстратів..

Аналіз біологічної продуктивності та часу плодоношення яскраво свідчить на користь ферментованого субстрату ЕМ Бокаші. Вага плодоносних зростків також була більшою 3000±100 г проти 1600±50 г. Збільшення плодоношення одного блоку розробленим нами способом ферментації та за звичайною технологією практично в два рази більшою..

Контрастні відмінності врожайності на нашу думку можуть бути пояснені тим, що при ферментації солом'яного субстрату ЕМ препаратами відбувається не лише розщеплення лігніну [6], а й повне знезараження. В той же час неферментований солом'яний субстрат на контрольних варіантах лише збільшив рівень кислотності в лужний бік. Це в свою чергу дещо пригнічувало розвиток конкурентної мікрофлори, але до повного її знищення не призвело. А сам міцелій не зміг повністю її подолати.

Заготовлювати Лінчжі найкраще з липня по листопад. В цей час гриби концентрують максимум корисних речовин. Дотримання правил сушки - головна умова для подальшого тривалого зберігання Рейши:

Нарізають великими шматочками і викладають в один шар на пергаментний папір. Сушать в природних умовах на сонці або в духовці при 45 градусах протягом 9-12 годин. Коли гриби перестануть прилипати, температуру підвищують до 70 градусів. Духовку тримають відкритою.

4.2. Характеристика препарату Циклооктасульфур та його застосування у ветеринарії

До складу Рейши входять багато корисних речовин, а також антибіотики. З останніх виготовляють кормовий антибіотик Циклооктасульфур, призначений для застосування у тваринництві як лікувально-профілактичний засіб.

Діючі речовини антибіотику тетрациклінового ряду і вітамін В12. Хлортетрациклін 8%, білків до 35-40%, жирів 8-10%, мінеральні речовини, ферменти, вітаміни (в тому числі до 20 мг / кг вітаміну В12), що мають ростостимулюючі властивості.

Застосування у ветеринарії. Антибіотики тетрациклінової і бацитрацинової груп згодовують з кормами (концентрати, молочні відвійки, замінювачі незбираного молока) для прискорення росту і підвищення м'ясної продуктивності тварин. Антибіотики дуже ефективні для птиці. Поросятам їх призначають через 7 днів після народження і закінчують давати за 6 діб до забою. Дійним коровам, козам, племінним тваринам антибіотики не застосовують. Корми з антибіотиками не можна запарювати і дріжджувати.

Циклооктасульфур ефективний при дотриманні певних умов – суворого дозування препарату, рівномірний розподіл в кормі, регулярна видача його тварині в період використання запорука вдалого використання препарату.

Не слід застосовувати Циклооктасульфур одночасно з тіамфеніколом, хлорамфеніколом, антибіотиками групи пеніциліну, цефалоспаринами і фторхінолонами, а також спільно з лікарськими засобами та кормовими добавками, що містять катіони магнію, алюмінію і кальцію, які, зв'язуючись з активними компонентами препарату, перешкоджають їх адсорбції [26, 27, 28].

Форма випуску: 25 кг крафт-мішки. Термін придатності: 3 роки з дати виготовлення. Препарат слід зберігати в упаковці виробника, сухому, захищеному від прямих сонячних променів і вологи місці при температурі від 0 ° до 30 ° С.

Характеристика поживного середовища для отримання Циклооктасульфуру

Склад поживних середовищ і умови культивування найважливіші критерії як для виробництва продуктів різного мікробного походження, будь-то дріжджі, бактерії, так і для виробництва плодових тіл сапрофітних грибів.

Поживне середовище, яке використовується, повинне бути повноцінним за своїм складом бюджетне. Ще однією важливою вимогою до поживного середовища є його стерильність [28].

При підборі поживного середовищі важливо враховувати співвідношення вуглецю і азоту, а так же сам джерело азоту. Температура і pH при яких відбувається ферментація, так само дуже впливають. Це пов'язано з активацією ферментів, які діють в процесі синтезу продукту.

Рівновага реакції анаболізму і катаболізму зміщується в залежності від pH середовища. Оптимальними умовами для росту *Actinomyces aureofaciens* вважається нейтральна реакція поживного середовища. Оптимальна температура для росту біомаси – 25 °C, а для синтезу екзополісахариду – 30 °C. При збільшенні температури знижується вміст піруватів, який перешкоджає синтезу продукту [32].

Швидкість перемішування поживного середовища так само позначається на зростанні і синтезі. При 800 оборотах в хвилину, різко знижується ріст клітин і вихід екзометаболітів, ймовірно через пошкодження клітин. А при 100 оборотах в хвилину синтез екзометаболітів і зростання культури інгібується через обмеження доступу кисню. Оптимальною швидкістю перемішування є 500 оборотів в хвилину [34, 39, 40].

Гліцерин. Побічний продукт біодизельній промисловості, дешевий у використанні. Однак, не всі штами *Actinomycetales* здатні використовувати його в якості джерела вуглецю [36].

Азот. При засвоєнні азоту можуть виникнути метаболічні блоки на рівні включення сполуки азоту в клітку. Джерело азоту може бути як органічного так і неорганічного походження[15]. З неорганічних джерел добре засвоюються: двозамісний фосфат амонію, глутамат натрію і нітрат натрію [4]. Надлишок азоту може призвести до зменшення продукції ксантану, проте зростання культури збільшиться. Це пояснюється тим, що інтенсивне зростання, є більш енергоємним процесом, і призводить до

швидкого виснаження поживного середовища внаслідок чого, сповільнюється біосинтез екзометаболітів [22, 32].

Органічні кислоти. Без присутності в складах поживних середовищ органічних кислот синтез екзометаболітів і зростання біомаси неможливий. Найпоширенішою кислотою використовуваної при синтезі антибіотиків є лимонна кислота, але так само використовують і її аналоги такі як фумарова і бурштинова кислоти [41, 46]. В деяких джерелах так само відзначається вплив магнію і фосфору на ріст культури, а вміст сірки в поживному середовищі на синтез полісахариду [60, 62].

Температура для культивування має бути не вижче та не нижче 28 ° С. Поживні середовища є основою мікробіологічних робіт, і їх якість нерідко визначає результати всього дослідження. Склад середовища для культивування наведений нижче (див. табл. 4.2):

Таблиця 4.2. – Склад поживного середовища для культивування продуценту кормового антибіотика Циклооктасульфуру

Компоненти поживного середовища	Стандартне поживне середовище	Удосконалене поживне середовище
Кукурудзяне борошно	12,1	-
Крейда	1,5	1,8
Риб’ячий жир	3,4	2,3
Хлорид кобальту	0,0025	0,0025
Лапрол	0,056	-
Соя	-	10,1
NaCl	-	3,9
Меляса	-	4,9

Для приготування поживного середовища для виробничих ферментерів передбачається роздільна стерилізація з застосуванням установки безперервної стерилізації (УБС) вуглеводовмісних компонентів (1 партія) та азотовмісних компонентів (2 партія) для розчинення використовують окремі ємності, і стерилізуються водні суміші цих компонентів послідовно у УБС (установці безперервної стерилізації).

Встановлюють УБС потрібної продуктивності і одну запасну, габарити, мм. Умови культивування наведені у таблиці нижче (див. табл. 4.3.)

Таблиця 4.3. – Умови культивування культури Actinomyces aureofaciens.

Показник	Стандартне поживне середовище	Удосконалене поживне середовище
Час, год.	216	196
t, °С	27	27
pH	5,6	5,6
Кількість об/хв.	200	180

Термін «актиноміцети» об'єднує широке коло грампозитивних бактерій. У сучасній систематиці актиноміцети відносяться до прокаріотичних мікроорганізмів: царство *Bacteria*, відділ *Actinobacteria*, клас *Actinobacteria*, підклас *Actinobacteridae*, порядок *Actinomycetales*, що включає 30 родин, більше 100 родів, 700 видів (Stackebrandt et al, 1997) [75, 76].

Основна відмінність актиноміцетів від мікроскопічних грибів – це відсутність ядра в клітинах, клітинна стінка містять пептиди-глікани і не містять хітин і целюлозу.

Актиноміцети – порядок бактерій, що мають здатність до формування на деяких стадіях розвитку розгалуженого міцелію. Вони можуть виступати симбіонтами безхребетних та вищих рослин [77, 84].

Streptomyces і спорулюючих *Actinomyces* спори утворюються в два етапи:

1) Апікальна ділянка повітряної гіфи відділяє септ, нуклеоїд витягується.

Майже одночасно клітина ділиться септами на ділянки, нуклеоїд ділиться в тих же місцях, клітинна стінка стає в 2 рази товще, спори округлюються і їх стінка стає в 7 разів товщі стінки гіфи.

2) олігоспорових септи закладаються базипітально. У монспорових можуть утворюватися за механізмом брунькування. Спороутворення викликається так званим фактором А ($C_{13}H_{22}O_4$).

Проростання відбувається в наступні стадії:

1) Інактивна спора гідрофобна, термостійка, не проявляє дихальної активності;
2) Змочена активована спора проявляє активність ферментів, починається дихання;
3) Спора набухає, починається синтез РНК;
4) Вихід 1-3 (рідше 4) ростових трубок, починається синтез ДНК. Ця стадія незворотна, інші три – оборотні.

Утворюють друзди – скупчення переплетених ниток з колбоподібними стовщеннями на кінцях. Пігменти можуть бути відсутніми через мутацій або деградації колонії. *Actinomyces aureofaciens* мають аеробні тип дихання. Оптимальною температурою для росту колоній вважається 25-30 °С. переважній більшості випадків окремі види актиноміцетів синтезують не один, а кілька вторинних метаболітів (антибіотики, пігменти). Деякі ж варіанти популяції (крім основного) синтезують лише один вторинний метаболіт із загального комплексу біологічно активних речовин, що виділяються типовим штаммом [25].

4.3. Обладнання для виробництва препарату Циклооктасульфура на відходах промислових підприємств

Проведення біосинтезу відноситься до найбільш важливої та відповідальної ділянки виробництва біотехнологічної продукції [78].

Поверхневе культивування полягає у вирощуванні культури гриба на поверхні рідких, сипучих і щільних неагаризованих поживних середовищах [37]. В якості найбільш використовуваної поживного середовища використовуються зволожені пшеничні висівки, як основний компонент середовища, з додаванням різних солей, що містять кальцій, фосфор, магній,

а також основні поживні елементи – вуглець і азот у співвідношенні 7:1, що забезпечують інтенсивний розвиток культури і біосинтез кінцевого продукту.

Поверхневий спосіб вирощування грибів має перевагу: під час зростання гриба перемішування субстрату не відбувається, отже, якщо і є якесь забруднення, то інфікування спостерігається лише на ділянці з забрудненням, тобто місцеве інфікування.

Недоліки:

1) Стерилізація середовища, повітря і обладнання;
2) Складність механізації процесу;
3) Собівартість культури-продуцента;
4) Може бути тільки періодичним.

Глибинне культивування це вирощування культури, зануреної в рідке поживне середовище. Глибинне культивування є найбільш перспективним у порівнянні з поверхневим. Для того щоб поживні речовини і кисень надходили клітин міцелію, необхідно механічне перемішування і безперервна аерація, які одночасно створюють сприятливі умови для зростання і накопичення біомаси продуктів метаболізму [32].

Для збільшення поверхонь розділу вдаються до таких способів:»як культивування в тонкому шарі, перемішування рідини шляхом струшування (прямого або кругового), обертання судин навколо їх поздовжньої осі, механічне перемішування, пропускання повітря через рідину під тиском за допомогою газорозподільні. лабораторних умовах зазвичай використовують вирощування наступними способами:

1) зі струшуванням;
2) на поступальній або обертальної гойдалці;
3) в судинах різної ємності з відбійниками;
4) з барботажем через середовище повітря без додаткового перемішування середовища;
5) в ферментаторах невеликої ємності (1 - 10 л) з продуванням повітря і механічним перемішуванням.

В промислових умовах вирощування виробляють в ферментаторах або системі ферментаторів, що досягають в обсязі від декількох тисяч до декількох десятків тисяч літрів. Обладнання для глибинної ферментації має менші об’єми, габарити та оптимізовані таким чином, щоб зменшити трудомісткість процесу біосинтезу» [39].

Отже, таким вимогам відповідає безперервне глибинне культивування у ферментері об’ємом 5 м^3 (рис. 4.3). Схема такого культивування наведена нижче:

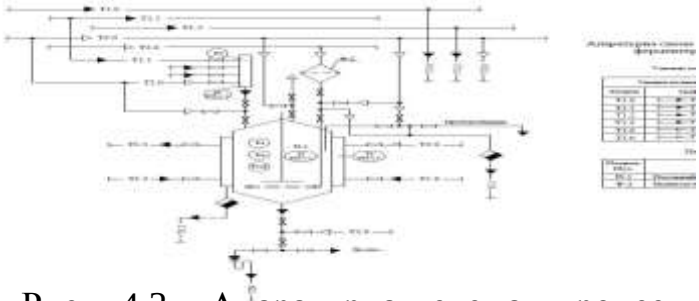

Рис. 4.3. Апаратурна схема процесу культивування *Actinomyces aureofaciens* з використанням ферментера з нижнім випуском рідини: де, Т1.0 - Вода технічна холодна; Т1.1- Вода питна; Т1.2- Вода технічна гаряча; Т1.3- Вода оборотна; Т2.0- Пара Р=0,2 Мпа; Т3.0 - Стиснене технологічне повітря. П-1 Посівний апарат; Ф-2 Індивідуальний фільтр стерилізації повітря.

4.4. Підбір оптимального складу поживного середовища для отримання препарату Циклооктасульфура

Поживні середовища є основою мікробіологічних робіт, і їх якість нерідко визначає результати всього дослідження. Оскільки в нашій роботі були використані мікроорганізми *Actinomycetales* декількох родин, за для отримання кормового антибіотику на відходах виробництва, то першою ланкою виробництва стає отримання достатньої кількості продуцентів.

Культивування Ganoderma lucidum проводять на рідких поживних середовищах, представлених в табл. 4.4 [33]. Культури вирощувалися в колбах Ерленмейера об'ємом 750 мл, що містять 150 мл рідкого поживного середовища, при постійному хитанні при 180 об / хвилин і температурі 28 °C.

Таблиця 4.4. – Склад рідких поживних середовищ, які використовуються в виробництві антибіотиків

Назва поживного середовища	Склад
Органічне середовище 2 гауз з крейдою	Тритон – 3,0 г; NaCl – 5,0 г; пептони – 5,0 г; $CaCO_3$ – 2,5 г; глюкоза – 10,0 г; вода – 1000 мл; pH 7,2 - 7,4
Середовище А4	Соя – 10,0 г; NaCl – 5,0 г; глюкоза – 10,0 г; $CaCO_3$ – 2,5 г; вода – 1000 мл; pH 7,2-7,4
Середовище 330	Крохмаль – 20,0 г; NaCl – 0,5 г; горох – 0,5 г; $CaCO_3$ – 5,0 г; сахароза – 0,5 г; вода – 1000 мл; $NaNO_3$ – 5,0 г; pH 7,0
Середовище 6613	$KaNO_3$ – 4,0 г; NaCl – 0,5 г; $CaCO_3$ - 5,0 г; дріжджовий екстракт – 2,5 г; крохмаль – 20,0 г; вода – 1000 мл; pH 7,0
Середовище 2663	Соя – 15,0 г; NaCl – 2,0 г; гліцерин – 30,0 г; $CaCO_3$ – 5,0 г; вода – 1000 мл; pH 7,0
Середовище 5339	Соя – 5,0 г; NaCl – 3,0 г; гліцерин – 20,0 г; $CaCO_3$ – 2,0 г; $(NH_4)_2SO_4$ – 1,5 г; вода – 1000 мл; pH = 6,8
Середовище 11654	Соя – 20,0 г; NaCl – 3,0 г; глюкоза – 30,0 г; $CaCO_3$ – 3,0 г; вода – 1000 мл; pH 7,4
Середовище «САХ»	Сахароза – 20,0 г; NaCl – 3,0 г; соя – 10,0 г; $CaCO_3$ – 3,0 г; KNO_3 – 2,0 г; вода – 1000 мл; pH 7,0
Середовище «ТОБРЕКС»	Глюкоза – 40,0 г; KCl – 0,5 г; пептони – 10,0 г; $NaNO_3$ – 3,0 г; $MgSO_4$ – 1,5 г; $FeSO_4$ – 10,0 мг; KH_2PO_4 – 2,0 г; вода дистильована – 1000 мл; pH 5,2

Накопичувальне середовище для культивування *Actinomyces aureofaciens* (середовище №1) [41]. Для культивування *Actinomyces aureofaciens* використовують поживне середовище, наступного складу:

1) кукурудзяне борошно – 12 %,
2) крейда – 1,4 %,
3) риб’ячий жир – 3,6 %,
4) хлорид кобальту – 0,0003 %,
5) лапрол– 0,06%.

Приготоване поживне середовище розливають по колбам Ерленмейера об'ємом 250 $см^3$, закривають ватно-марлевими пробками, пергаментним папером і стерилізують в автоклаві при 121 °С (1 атм) протягом 20 хв.

Нашим вимогам відповідає безперервне культивування у ферментері об’ємом 5 $м^3$.

Склад удосконаленого середовища:

1) соя – 10 %,
2) крейда – 1,4 %,
3) риб’ячий жир – 3,6 %,
4) хлорид кобальту – 0,0003 %,
5) NaCl- 4,0%,
6) Меляса- 5,0%.

Стерилізувати середовище необхідно при 121 °С, 30 хв. Необхідна температура для культивування 27 °С (

Культивування продуценту Циклооктасульфура

Біосинтез антибіотиків при глибинному культивуванні проводився у 15 штамів актиноміцетів (6 штамів ґрунтових і 9 штамів ендофітних актиноміцетів), які належали до культурам рідкісних родів порядку *Actinomycetales – Nonomuraea spp., Nocardiopsis spp.* і *Actinoplanes spp*. на підставі вивчення антибіотичних властивостей на накопичувальних середовищах відібрані штами були активні щодо грампозитивних тест-бактерій, включаючи метицилінорезістентного стафілококу *Staphylococcus aureus* ІНА 00761 (MRSA). Порівняння запропонованого нами середовища для культивування антибіотику та стандартного середовища показало, що вміст у культуральній сировині кінцевого продукту вище майже на 25 відсотків та становить у середньому 24 мг/мл речовини у культуральній рідині в порівнянні із 20 мг/мл речовини при культивування на стандартному середовищі.

Визначення антибіотичного спектра дії культуральної рідини досліджуваних штамів проводять кожні 48 годин методом дифузії в органічний агар 2 гауз (триптон – 3,0 г; NaCl – 5,0 г; пептони – 5,0 г; агар – 20,0 г; глюкоза – 10,0 г; вода –1000 мл; pH 7,2-7,4) [44] по відношенню до грампозитивних тест-бактерій – *Staphylococcus aureus* [49].

Відомо, що індукування у *Actinomyces aureofaciens* можливо за допомогою ауторегуляторів – фізіологічно активних сполук різної хімічної природи. Ці сполуки відіграють сигнальну роль у зміні кількісного (швидкість росту) або якісного стану мікробної культури [35, 56]. Також відомо, що біомедіатори впливають на біохімічні та метаболічні процеси в клітинах [37, 43, 48].

Після культивування досліджуваних *Actinomyces aureofaciens* на рідких середовищах з біологічно активними речовинами в концентраціях адреналіну – 0,001, 0,0015 і 0,002 мг / л, калієва сіль індолил-3-оцетової кислоти (ІОК) – 0,015 і 0,02 мг / л на 5-9-а добу у деяких культур спостерігається поява антибактеріальної дії щодо тест-бактерії (див. рис. 4.6).

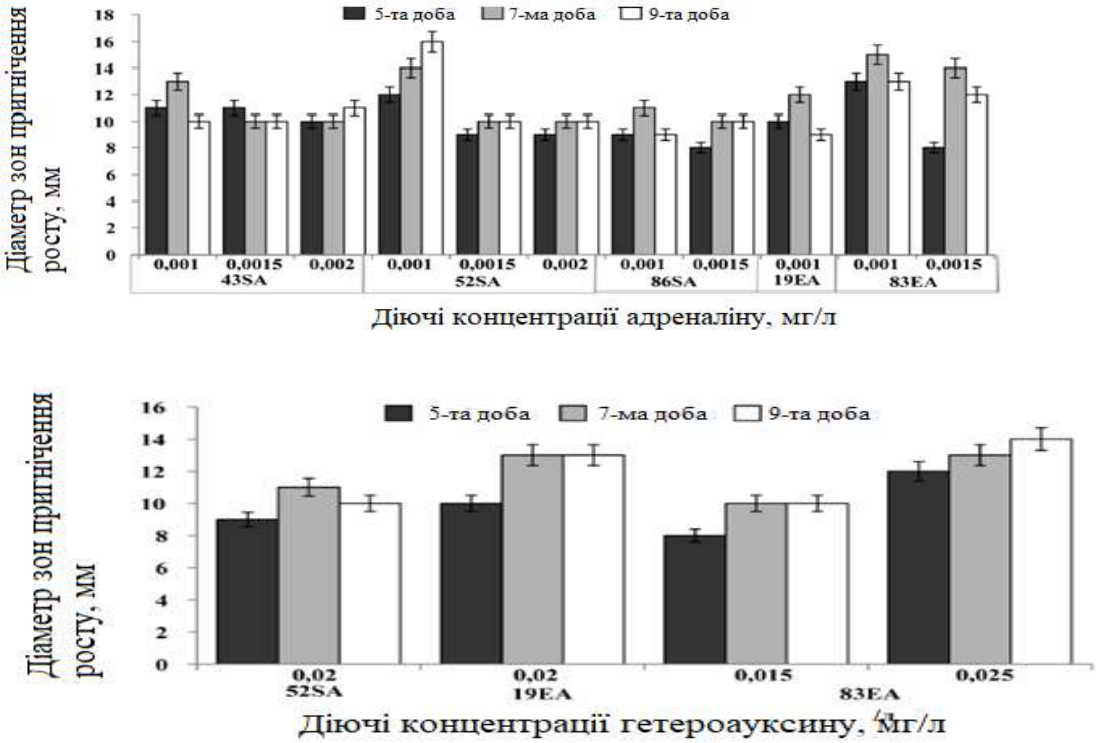

Рис. 4.6. Зони пригнічення росту екзометаболітами штамів актиноміцетів, культивованих на рідкому поживному середовищі.

Примітка. SA – ґрунтові актиноміцети; EA – ендофітні актиноміцети. Неактивні культури були виключені з діаграм. Достовірність відмінностей відповідає $p < 0,05$

В контролі досліджувані штами не активні. В результаті проведених експериментів було встановлено оптимальних концентрації дії адреналіну –

0,001мг/л і калієва сіль індолил-3-оцетної кислоти (ІУК) – 0,02 мг / л. Поява антибактеріальної дії у досліджуваних штамів при культивуванні на рідких поживних середовищах з додаванням біогенних амінів може бути пов'язано з двома факторами – чутливістю тест-бактерій до розчинів адреналіну і / або ІУК або індукцією утворення антибіотиків біогенними амінами.

4.5. Технологічна схема виробництва кормового тритерпену Циклооктасульфуру

Біотехнологічний процес виробництва кормового антибіотика Циклооктасульфуру можна зобразити у вигляді наступної схеми:

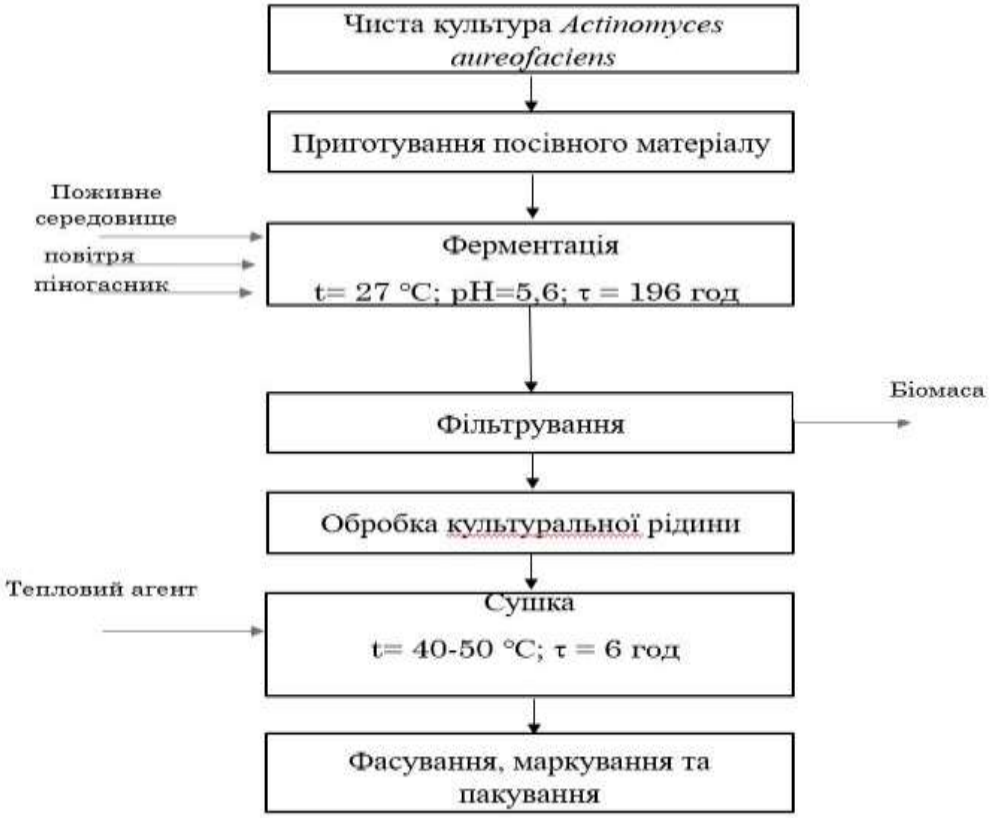

Рис. 4.7. Схема виробництва антибіотиків в процесі мікробіологічного синтезу.

Подрібнене зерно, яке використовують зазвичай як основну частину корму, замочують до вологості 40-50% і розкладують по 5-10 кг на алюмінієвий лист шаром близько 5 см. Зерно на аркушах стерилізують в автоклаві протягом 6 години при температурі 105-110°С. Потім поверхню зерна засівають посівним матеріалом відповідного продуцента – *Actinomyces*

aureofaciens. На рисунку нижче (див.рис. 4.8) показана класична схема виробництва кормового антибіотика.

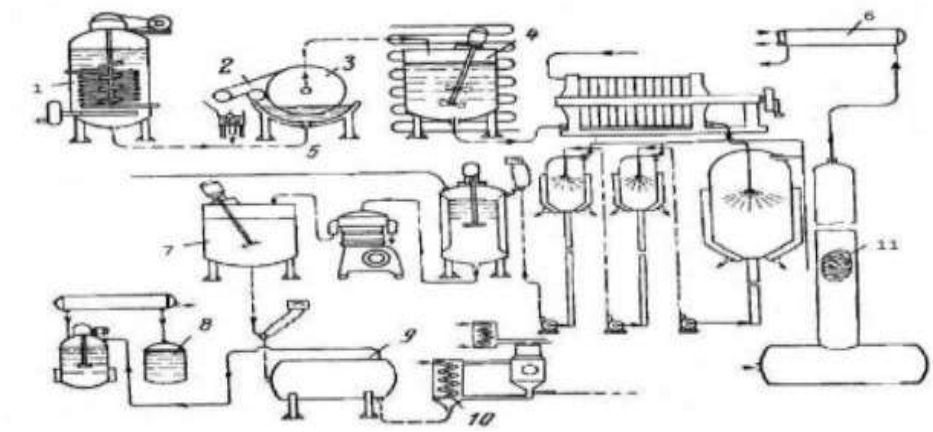

Рис. 4.8. Класична технологічна схема виробництва кормового антибіотику 1 – бродильний чан; 2 – направляючий рукав; 3 – обертаючий барабан; 4 – холодильник; 5 – вакуум-фільтр; 6 – згущувач; 7 – зміщувач; 8 – приймач; 9 – відстіювач, 10 – вакуумвипарник; 11 – фракційна колонка.[]

На поверхню засіяного зерна насипають перероблені відходи виробництва шаром 0,5–1 см. Всі ці операції виконують в стерильних умовах, а подальше пророщування протягом кількох днів здійснюється в термостатних камерах з температурою 26-30 градусів. Через 8-10 днів утворюється маса вологістю 50%, що містить в залежності від застосовуваного штаму і субстрату 200–400 мг/кг антибіотика Теравіт К і 0,1–0,4 мг вітаміну В12.

Отриманий препарат змішують з кормами у співвідношеннях залежних від його активності. При удосконаленні цієї схеми додали процес сушки препарату в шафових, парових або інших сушарках. При сушінні в шафових сушарках вологий збагачений матеріал розкладують тонким шаром на 10-18 годин при температурі 40 – 50˚С. Після висушування для визначення активності беруть проби матеріалу.

РОЗДІЛ 5.
ЕКОНОМІЧНА ЕФЕКТИВНІСТЬ ПРОРОДООХОРОННИХ ЗАХОДІВ ПРИ ВИРОЩУВАННІ ГРИБА РЕЙШІ

Вирощування лікувальних грибів викликає зацікавленість не лише завдяки його морфо метричним параметрам, але й завдяки їхнім біологічним і споживчим властивостям. Серед великого різноманіття грибів у штучних умовах вирощують близько 13 видів, які містять багато протеїну, вуглеводів, вітамінів, 18 незамінних амінокислот та органічних кислот. Зазначених сполук у грибах, вирощених у закритому ґрунті більше порівняно з грибами, що ростуть у природних екосистемах [1].

Насичення продовольчого ринку екологічно чистою і відносно дешевою грибною продукцією, є основою забезпечення організму людини білком. В майбутньому 2/3 її потреби у білк задовольнятиметься за рахунок промислового виробництва грибів. Уже нині майже 80 країн світу в штучних умовах вирощують двоспоровий шампіньйон, гливу звичайну, шиїтаке, рейші, опеньок літній, зимовий гриб, кільцевик та інші види грибів [3].

Критерієм екологізації промислового вирощування гриба Рейші є наявність в його складі унікальних компонентів. Серед них: германій, що насичує клітини і тканини киснем, полісахариди, кращі природні імуностимулятори, стерини, які нормалізують гормональний обмін в організмі, аденозин, покращує роботу серцево-судинної системи, тритерпен, що спричинює сильну антигістамінну дію.

Крім того, трутовик багатий органічними і ганодермовимі кислотами, вітамінами груп B_3, B_5, C і D, кумаринами, фітонцидами, амінокислотами, магнієм, кальцієм, марганцем [3].

Лікувальні властивості грибів Рейші дозволяють використовувати його при профілактиці і лікуванні різних хвороб: патології серця і судин, цукрового діабету, виразкові ураження шлунково-кишкового тракту, хронічні

інфекції, ожиріння, порушення гормонального балансу, запальні процеси, хвороби печінки і нирок [9].

Виробництво їстівних та лікарських грибів є конвеєрною безвідходною технологією, оскільки вирощування культури проводиться впродовж року. Субстрат після вирощування грибів використовують як органічне добриво для удобрення багатьох сільськогосподарських культур відкритого ґрунту [32]. Отже разом з грибами як їжею, в Україні є і грибна сировина для фармацевтичних виробництв (наприклад для виробництва дієтичних добавок або речовин три терпенової групи).[38]

Економічна ефективність вирощування Рейші визначається врожайністю культури, реалізаційною ціною продукції, вартістю субстратів, затратами на культивування та ін. (табл. 5.1).

В системі показників, які характеризують ефективність виробництва і посилення його інтенсифікації, одне із провідних місць належить собівартості продукції.

Таблиця 5.1. – Економічна ефективність вирощування рейші

Вид обробки блоку	Субстрат	Урожайність		Вартість продукції, грн./м^2	Умовно чистий доход, грн../м^2	Рівень рентабельності,%	Собівартість продукції, грн./кг
		г/кг субстрату	кг/м^2				
1	пшениця	264,3	79,3	2378,6	1558,44	88,0	16,0
	ячмінь	271,4	81,4	2442,9	1594,45	93,1	15,5
2	пшениця	228,6	68,6	2057,1	1373,55	62,6	18,4
	ячмінь	485,7	145,7	4371,4	2674,00	119,3	13,7
3	пшениця	340,0	102,0	3060,0	1923,82	108,3	14,4
	ячмінь	488,6	146,6	4397,1	2686,21	120,1	13,6
4	пшениця	271,4	81,4	2442,9	1594,45	93,1	15,5
	ячмінь	285,7	85,7	2571,4	1665,51	103,3	14,8
5	пшениця	428,6	128,6	3857,1	2305,41	116,8	13,8
	ячмінь	431,4	129,4	3882,9	2316,90	117,8	13,8

Для розрахунку чистого доходу використовували показник вартість валової продукції, який розраховували в фактичних цінах реалізації. Зростання чистого доходу і прибутку є узагальнюючим показником зміцнення економіки підприємств.

Урожайність грибів рейші коливається в межах 68,6-146,6 ц/га, що при оптовій вартості вирощених грибів 30 грн./т забезпечує досить високий для сьогоднішніх економічних умов рівень рентабельності Але внаслідок різної врожайності і, відповідно, вартості реалізованої продукції собівартість, чистий доход та рівень рентабельності у варіантах, що вивчаються, змінюються у широкому діапазоні.

Величина умовно чистого прибутку на 1 м^2 знаходиться в межах від найнижчих 1373,55 грн./м^2 до найвищих 2686,21 грн./м^{2,} рівень рентабельності від 62,6% до 120,1%.

Виручка від реалізації продукції знаходилася в прямій залежності від урожайності і коливалася в межах від 2057,1 до 4391,7 грн./га. При цьому максимальне значення показника вартості валової продукції – 4391,7 грн./га, було відмічене у варіанті 3 досліду з використанням ЕМ Арго.

Одночасно компост, після вирощування грибів є цінним органічним добривом, забезпечує ґрунт поживними елементами, поліпшує його структуру. Використання відходів грибних виробництв дозволяє зменшити витрати на добрива в сівозміні відкритого ґрунту, що суттєво знижує собівартість основної продукції.

Економічна ефективність вирощування рейші залежить від складу субстратів Найвищі показники економічної ефективності відмічено у варіантах 2 та 3 при використанні ячмінного субстрату. Хоча виробничі затрати при його застосуванні вищі, але внаслідок істотного збільшення врожайності, собівартість продукції зменшується, а чистий доход і рівень рентабельності зростають.

РОЗДІЛ 6
ОХОРОНА ПРАЦІ

6.1. Аналіз розташування території товариства, споруд і приміщень у ТОВ «ЕМ Україна».

Для забезпечення нормальних умов праці при проведенні екологічного обґрунтування вирощування гриба Ganoderma Lucidum інтенсивним способом проводиться паспортизація санітарно-технічного стану виробничих ділянок. Відпрацьовані плани покращення умов праці, основні положення внесені в колективний договір товариства, їх виконання контролюється спеціальною комісією профспілкового комітету з охорони праці [16].

Виробничі та складські приміщення у товаристві відповідають вимогам ДБН 2.09.02-85, ДБН 2.11.01-85, НПАОП 0.03-3.15-86 (СНіП №4088-86), СНіП 2.01.02-85, СНіП II-4-79. Виробничі приміщення, в яких під час виконання робіт виділяються пара, пил чи гази, ізольовані від інших приміщень.

Повітря робочої зони має вміст шкідливих речовин, яке відповідає нормам, що встановлені у НПАОП 0.03-3.20-90 «Орієнтовно безпечні рівні впливу (ОБРВ) шкідливих речовин у повітрі робочої зони». Кольори фарбування виробничих, допоміжних приміщень та обладнання відповідають СН 181-70.

У дверях виробничих і допоміжних приміщень немає порогів та виступів, а двері відкриваються назовні. Нахил на в’їзді не більше 5°. Вхідні двері виробничих будинків і споруд, де розташовані робочі місця і такі, що відкриваються частіше 5 разів або не менше ніж на 40 хв. за зміну, а також відкриті технологічні двері опалюваних будівель і споруд, розміщених в районах з середньою температурою зовнішнього повітря для умов холодного періоду року -15°С і нижче, обладнані повітряно-тепловими завісами. Отвори тамбурів обладнані спеціальними безпечними пристроями для автоматичного

закривання. На стінах чи дверях приміщень встановлені необхідні знаки безпеки та вказані класи вибухо- та пожежної безпеки. Ворота гаражів і приміщень для зберігання машин ширші і вищі від машин не менш ніж на 1 м. Експлуатація складів пально-мастильних матеріалів і автозаправних станцій здійснюється відповідно до НПА ОП 1.1.21-1.13-87.

Нещасні випадки, які сталися у товаристві і визвали у працівника втрату працездатності на один і більше днів оформлюються актом за формою Н-1. Керівник товариства, приймає заходи по усуненню причин, які визвали нещасний випадок. Всі нещасні випадки, оформлені актом Н-1 реєструються у спеціальному журналі.

Робітники, зайняті на роботах по вирощуванні гриба Ganoderma Lucidum забезпечені захисними засобами та спецодягом. Для них встановлена тривалість робочого часу не більше 36 годин в тиждень.

Служба охорони праці товариства забезпечена нормативною документацією з охорони праці. Службою охорони праці товариства розроблено положення про навчання, інструктаж і перевірку знань працівників з питань охорони праці та організовано їх практичне застосування. Кожного року виділяються кошти на покращення соціально-побутових умов працюючих, зниження захворювання і травматизму.

З метою виявлення та попередження захворювань усі працівники щорічно проходять обов’язковий медичний огляд.

Щодо виробничих та адміністративних приміщень, то всі вони укомплектовані первинними засобами пожежогасіння та аптечками для надання невідкладної медичної допомоги. Також у товаристві є санітарно-побутові приміщення: душові та кімнати відпочинку.

Так як основна частина робіт виконується при вирощуванні гриба Ganoderma Lucidum, то найбільше травмувань та нещасних випадків трапляється саме під час виконання таких робіт [16].

За період з 2017 по 2019 рр. виробничий травматизм при виконанні таких робіт набув змінного характеру та різної тяжкості травм. Натомість за

вказаний період не було зафіксовано жодного випадку загибелі працівників. Кількість робочих місць із сприятливими умовами праці та забезпечення санітарно-побутовими приміщеннями постійно збільшується, однак на низькому рівні залишається показник зайнятості працюючих в несприятливих умовах праці.

6.2. Особливості умов праці та аналіз небезпечних і шкідливих факторів, які виникають під час вирощування гриба Ganoderma Lucidum.

У процесі вирощування гриба Ganoderma Lucidum інтенсивним способом на солом'яних субстратах на працівників можуть діяти наступні шкідливі та небезпечні виробничі чинники:

«Фізичні шкідливі та небезпечні виробничі чинники:

- підвищена загазованість та запиленість парами, що виділяються при вирощуванні гриба Ganoderma Lucidum та від солом'яних субстратів;
- рухомі машини й агрегати, які використовуються для виконання робіт і які знаходяться поряд з місцем виконання робіт;
- висока температура поверхонь матеріалів та обладнання;
- висока або низька температура повітря на робочому місці при виконанні роботи в різні періоди року;
- підвищений рівень вібрації та шуму на робочому місці;
- висока вологість повітря, де вирощується гриб Ganoderma Lucidum;
- знижена рухомість повітря де вирощується гриб Ganoderma Lucidum;
- значення напруги в електричному ланцюгу перевищує безпечні норми, і замикання може пройти через людину;
- високий рівень статичного струму;
- низький рівень природного освітлення;
- недостатній рівень освітленості робочої зони;
- висока яскравість світла штучного освітлення;
- понижена контрастність між об'єктами розрізнення;

- інструменту, який використовується для виконання робіт має гострі краї, шорсткість на поверхнях.

Хімічні шкідливі і небезпечні виробничі фактори:

- сульфати, сірководень, свинець, ціанід, ртуть, кадмій, нікель;
- леткі нафтопродукти, хлорорганічні ароматичні сполуки, аліфатичні сполуки;
- спирти, ацетон;

Біологічні шкідливі і небезпечні виробничі чинники:

- макроелементи;
- бактерії групи кишкових паличок;
- макроорганізми (рослини та тварини).

Психофізіологічні небезпечні та шкідливі виробничі фактори:

- фізичні, статичні й динамічні, перевантаження;
- нервово-психічні перевантаження (перенапруження аналізаторів, монотонність праці).

Можливі джерела шкідливих і небезпечних чинників:

- зовнішні погодні фактори (гроза, вітер, опади, висока температура зовнішнього повітря тощо);
- неправильні режими відпочинку і роботи;
- рухомий транспорт та інженерні комунікації;
- ручні роботи, які викликають суттєві перевантаження;
- солом’яні субстрати, на яких вирощують гриб інтенсивним способом»[16].

6.3. Розробка заходів по запобіганню дії небезпечних та шкідливих виробничих факторів і покращенню умов праці

6.3.1. Розрахунок системи вентиляції лабораторії для проведення екологічного обґрунтування вирощування гриба Ganoderma Lucidum інтенсивним способом.

Природну вентиляцію в лабораторії забезпечують за допомогою вікон. Повітря вважається забрудненим, якщо в ньому високий вміст вуглекислого газу. Необхідний за вмістом вуглекислого газу повітряний обмін ($м^3$/год) визначаємо за формулою

$$L_{co_2} = \frac{1{,}2 \cdot P_k \cdot m}{P_{д.} - P_{пр.}}, \qquad (6.1)$$

де P_k – кількість CO_2, який виділяється однією людиною, *л/год*,

m – кількість робітників приміщенні;

$P_{д.}$ – допустима кількість CO_2 у приміщенні, ($P_{д.}$=2,5 *дм/м*^{3});

$P_{пр.}$ – кількість CO_2 у припливному повітрі, ($P_{пр.}$=0,4 *м*^{3});

1,2 – коефіцієнт який враховує виділення CO_2 приладами та машинами.

$$L_{co_2} = \frac{1{,}2 \cdot 114 \cdot 100}{2{,}5 - 0{,}4} = 6514{,}3 м^3/год.$$

Визначаємо повітряний обмін необхідний для видалення надлишків вологи за формулою

$$L_{н_2о} = \frac{1{,}1 \cdot d_{т.} \cdot m}{d_{п.пр.} - d_{пр.}}, \qquad (6.2)$$

де $d_т$ – кількість водяних парів, які виділяються однією людиною, г/год;

m – кількість працівників;

$d_{п.пр.}$ – вміст водяних парів у повітрі приміщення, *г/м*^{3};

$d_{пр.}$ –вміст водяних парів у припливному повітрі, *г/м*^{3};

1,1 – коефіцієнт, який враховує випаровування вологи з предметів, які знаходяться у лабораторії.

$$d_{п.пр.} = \varphi_{вн.} \cdot \frac{\gamma_{вн.}}{100}; \quad d_{пр.} = \varphi_{з.} \cdot \frac{\gamma_{з.}}{100}, \qquad (6.3)$$

де $\varphi_{вн.}$, $\varphi_{з.}$ – вологоємність внутрішнього та зовнішнього повітря при оптимальній для даного приміщенні та розрахованій температурі, *г/м*^{3};

$\gamma_{вн.}$, $\gamma_{з.}$ – відносна вологість повітря у середині та зовні, %.

$$d_{п.пр.} = 8{,}9 \cdot \frac{60}{100} = 5{,}34 \ \ г/м^3.$$

$$d_{пр.} = 0{,}98 \cdot \frac{75}{100} = 0{,}74 г/м^3.$$

$$L_{н_2о} = \frac{1{,}1 \cdot 364 \cdot 100}{5{,}34 - 0{,}74} = 8704 м^3/год.$$

Визначаємо повітряний обмін необхідний для видалення надлишків теплоти за формулою

$$L_{н.т.} = \frac{\Sigma Q_{з.}}{C(t_{вн.} - t_{з.}) \cdot \rho}, \qquad (6.4)$$

де $\Sigma Q_{з.}$ – загальна кількість надлишкової теплоти, *кДж/г*;

C – теплоємкість повітря, *кДж/кг.град*;

ρ – густина припливного повітря, *кг/м*^{3}.

$$L_{н.т.} = \frac{9200}{8{,}4(22 - 10) \cdot 1{,}22} = 74{,}8 \ м^3/год.$$

Необхідний максимальний повітряний обмін визначимо за формулою

$$L_{мах} = L_{CO_2} + L_{H_2O} + L_{н.т.} \qquad (6.5)$$

$$L_{мах} = 6514{,}3 + 8704{,}0 + 74{,}8 = 15293{,}1 м^3/год.$$

Визначаємо кратність повітрообміну, необхідного для нормального забезпечення життєдіяльності працівників за формулою

$$K = L_{max}/V_n, \qquad (6.6)$$

де V_n– об’єм приміщення, м^3;

K = 15293,1/6400=2,4<3

Так як коефіцієнт кратності повітрообміну К<3, то приймаємо для вентиляції лабораторії природну вентиляцію.

6.3.2. Вибір і обґрунтування засобів індивідуального захисту

При роботі з речовинами всіх класів небезпечності необхідно користуватися універсальними протигазовими респіраторами типу РУ-60М із протигазовими патронами чи використовувати фільтруючі протигазами. Під час роботи з речовинами, що відносяться до небезпечних (II кл. небезпеки згідно з «Гігієнічною класифікацією небезпечних речовин ступенем небезпечності», ДСанПін 8.8.1.002-98) рекомендується використовувати фільтруючі протига, а при роботі з речовинами, що відносяться до мало- і помірнонебезпечних (III і IV кл. небезпеки) необхідно використовувати протигазові респіратори (РУ-60М чи РПГ-67) з протигазовими патронами.

6.3.3. Обов'язки роботодавця щодо створення безпечних і нешкідливих умов праці при вирощуванні гриба Ganoderma Lucidum інтенсивним способом.

Дослідження по вирощуванні гриба Ganoderma Lucidum інтенсивним способом повинні відбуватися під керівництвом та наглядом досвідченої особи - керівника.

Перед початком досліджень необхідно провести інструктаж з охорони праці та зробити відповідні записи в журналі з охорони праці [16].

Роботодавець забезпечує нешкідливі та безпечні умови праці у відповідності із: «Загальними вимогами забезпечення роботодавцями охорони праці працівників, затверджених наказом МНС України від 25 січня 2012 року № 67.

Роботодавець зобов'язаний забезпечити працівників засобами індивідуального захисту, спецодягом, спецвзуттям та ін. у відповідності з вимогами «Положення про порядок забезпечення працівників спеціальним одягом, спеціальним взуттям та іншими засобами індивідуального захисту», затвердженого наказом Державного комітету України з промислової безпеки, охорони праці та гірничого нагляду від 24 березня 2008 року № 53.

Засоби індивідуального захисту повинні відповідати вимогам Технічного регламенту засобів індивідуального захисту, затвердженого постановою Кабінету Міністрів України від 27 серпня 2008 року № 761.

Забороняється використання праці жінок на роботах, визначених у Переліку важких робіт та робіт із небезпечними і шкідливими умовами праці, на яких забороняється застосування праці жінок, затвердженому наказом Міністерства охорони здоров'я України від 29 грудня 1993 року № 256.

Підіймання та переміщення тяжких речей жінками здійснюється з дотриманням вимог «Граничних норм підіймання і переміщення важких речей жінками», затверджених наказом Міністерства охорони здоров'я України від 10 грудня 1993 року № 241.

Також забороняється до виконання таких робіт залучення неповнолітніх, їх перелік визначений у «Переліку важких робіт і робіт із шкідливими і небезпечними умовами праці, на яких забороняється застосування праці неповнолітніх», затвердженому наказом Міністерства охорони здоров'я України від 31 березня 1994 року № 46.

Роботодавець за власні кошти зобов'язаний організувати медичні огляди робітників перед прийняттям на роботу, в період роботи» [16].

Працівники повинні проходити навчання, перевірку знань з охорони праці у відповідності з вимогами «Типового положення про порядок проведення навчання і перевірки знань з питань охорони праці» та «Переліку робіт з підвищеною небезпекою».

Роботодавець зобов'язаний забезпечити стан пожежної безпеки у відповідності з вимогами «Правил пожежної безпеки в Україні», які затверджені наказом МНС України.

Роботодавець повинен отримати дозвіл на проведення робіт підвищеної небезпеки та на використання машин і устаткування підвищеної небезпеки у відповідності з вимогами «Порядку видачі дозволів на виконання робіт підвищеної небезпеки».

6.3.4. Розробка інструкції з охорони праці під час виконання робіт по вирощуванню гриба Ganoderma Lucidum інтенсивним способом.

Працівники, зайняті на роботах із застосуванням шкідливих речовин і пожежонебезпечних матеріалів, повинні:

- знати ГДК шкідливих речовин у повітрі робочої зони, вирощується гриб Ganoderma Lucidum інтенсивним способом;
- знати класи небезпеки матеріалів, які при цьому застосовуються та заходи дотримання охорони праці залежно від цього;
- уміти надавати першу долікарську допомогу потерпілим від впливу небезпечних та шкідливих речовин;
- знати і дотримуватися правил пожежної безпеки;
- дотримуватися правил виробничої санітарії і особистої гігієни.

Робітники, які задіяні на виконанні робіт із застосуванням пожежонебезпечних матеріалів та небезпечних чи шкідливих речовин, повинні користуватися спецвзуттям, спецодягом, та ін. засобами колективного і індивідуального захисту у відповідності з характером робіт, що виконуються.

Під час отримання засобів індивідуального захисту робітникам необхідно провести інструктаж про порядок користування ними та догляду за їх станом.

Для попередження впливу шкідливих речовин на розвиток захворювань шкіри від власник зобов’язаний за власні кошти забезпечувати працівників профілактичними і захисними мазями.

Перевірити справність установок примусової вентиляції та наявність природної вентиляції, наявність первинних засобів пожежогасіння, джерел штучного освітлення.

При роботі з хімічними речовинами необхідно дотримуватися таких правил:

- тару з хімічними речовинами щоб уникнути нещасних випадків переміщати спеціальними пристосуваннями;

- переносити наповнені ємності тільки вдвох на спеціальних пристосуваннях.

6.4. Розробка заходів з пожежної профілактики

Приміщення, залежно від напрямків їх використання, розмірів і від фізичних і хімічних властивостей матеріалів, які використовуються, а також від найбільш можливої кількості присутніх робітників обладнані первинними засобами пожежогасіння і необхідною кількістю сигнальних та аварійних пристроїв згідно з ДСТУ ISO 6309:2007, ДСТУ IEC 80416-1:2005, ДСТУ ISO 3864-1:2005.

Місця для встановлення первинних засобів пожежогасіння легкодоступні і забезпечують їх знімання без використання додаткових пристроїв, причому час на їх знімання не перевищує 8 с.

Місця для зберігання техніки комплектуються засобами пожежогасіння у відповідності з вимогами правил пожежної безпеки. Організація та обладнання робочих місць для виконання робіт, відповідають вимогам ДСТУ 2448-94, ДСТУ 2456-94, ДСТУ 2489-94, НАОП 0.00-5.11-95, НАОП 0.03-1.06-93.

При вході в приміщення, де виконуються роботи з застосуванням пожежонебезпечних речовин, встановлені попереджуючі знаки. Усі роботи всередині таких приміщень, що виконуються із застосуванням пожежонебезпечних речовин, виконуються при відкритих вікнах чи примусовій вентиляції [16].

6.5. Висновки по розділу.

В розділі проведено аналіз розташування території підприємства, споруд і приміщень ТОВ «ЕМ Україна». Розглянуто особливості умов праці та аналіз небезпечних і шкідливих факторів, які виникають під час вирощування гриба Ganoderma Lucidum інтенсивним способом. Виконаний розрахунок системи вентиляції лабораторії для проведення досліджень та вибір і обґрунтування засобів індивідуального захисту. Розроблені правила

роботи при вирощуванні гриба Ganoderma Lucidum та заходи з пожежної профілактики. Розглянуто обов’язки роботодавця щодо створення безпечних і нешкідливих умов праці.

ВИСНОВКИ

1. Визначено агроекологічні показники, що характеризують ріст і розвиток міцелію гриба, в умовах інтенсивного культивування. Показано, що вигляд Ganoderma Lucidum по швидкості росту в цих умовах відноситься до повільно зростаючихм.

2. Розроблено енергоефективну технологію для отримання плодових тіл гриба Ganoderma Lucidum. Найбільш оптимальним, є субстрат з додаванням ЕМ Бокаші, основним компонентом якого є ячмінна солома.

3. Використання традиційних антибіотиків для стимуляції росту м'язової тканини продуктивних тварин несе найбільшу загрозу при отриманні м'ясної продукції, внаслідок поширення штамів мікроорганізмів,котрі набули резистентності до традиційних антибіотиків. Найкраща альтернатива застосуванню традиційних антибіотиків та стимуляторів росту в тваринництві – це застосування безпечних біопрепаратів на основі тритерпенів.

4. Урожай грибів рейші знаходиться в межах 68,6-146,6 ц/га, що при оптовій вартості вирощених грибів 30 грн./т забезпечує досить високий для сьогоднішніх економічних умов рівень рентабельності

5. Величина умовно чистого прибутку на 1 м^2 знаходиться в межах від найнижчих 1373,55 грн./м^2 до найвищих 2686,21 грн./м^{2,} рівень рентабельності від 62,6% до 120,1%.

6. Виручка від реалізації продукції знаходилася в прямій залежності від урожайності і коливалася в межах від 2057,1 до 4391,7 грн./га. При цьому максимальне значення показника вартості валової продукції – 4391,7 грн./га, було відмічене у варіанті 3 досліду з використанням ЕМ Арго.

7. Виконаний розрахунок системи вентиляції лабораторії для проведення досліджень та вибір і обґрунтування засобів індивідуального захисту. Розроблені правила роботи при вирощуванні гриба Ganoderma Lucidum та заходи з пожежної профілактики.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Антоненко Л.О. Технологічні особливості глибинного культивування базидіальних грибів роду Coriolus. *Восточно-Европейский журнал передовыхтехнологий*. 2019. №6(6). С. 4-13.

2. Бабаянц О.В. Грибівництво в Україні: наука та практика сьогодення. *Посібник українського хлібороба*. 2019. С. 279-280.

3. Бандура И.И. Формирование качества ферментированного субстрата для культивирования ксилотрофных базидиомицетов. *Иммунопатология. Аллергология. Инфектология*. 2018. №1. С. 239.

4. Баранова С.В. Культивирование съедобных базидиомицетов – перспективный путь переработки растительных отходов. *Виноградарство и виноделие*. 2019. №30. С. 62-65.

5. Басалаева С.Н. Влияние температуры и упаковки на сохраняемость свежих дикорастущих грибов: (влияние охлаждения и подмораживания). *Современные технологии производства и переработки сельскохозяйственной продукции*. Новосибирск, 2019. С. 63-69.

6. Беккужина С.С. Выделение водной формы культурального фильтрата гриба SeptorianodorumB. в изучение его токсичности для селекции invitro. *Естественные и технические науки*. 2017. №4. С. 86-89.

7. Белковые гидролизаты в качестве компонентов питательных сред для выращивания мицелия съедобных грибов. *Рыбпром: технологии и оборудование для переработки водных биоресурсов*. 2018. №2. С. 100-101.

8. Влияние трегалозы на сохранность грибницы некоторых съедобных грибов. Ч.2: Влияние на сохранность в холодильнике. *Mycoscience*. 2013. 44, N1. P. 71-74.

9. Влияние флуоресцирующих Pseudomonas на улучшение роста съедобных грибов и его механизмы / Dong X., Zhou W., Zhang J. Tal. *Actaecol. sin.*2018. 30, N17. P. 4685-4690.

10. Возраст деревьев влияет на развитие плодовых тел съедобных эктомикоризных грибов в древостоях Pinussy. *Mycorrhiza*. 2019. 21, N1. P. 65-70.

11. Выбор штамма-продуцента съедобного базидиального гриба для биотехнологического процесса получения пищевой добавки в глубинной культуре. От фундаментальной науки – к новым технологиям: химия и биотехнология биологически активных веществ, пищевых продуктов и добавок. Экологически безопасные технологии: междунар. конф. молодых ученых: (Моска-Тверь, 25-28 сент. 2001 г.). Тверь, 2018. С. 69-70.

12. Гарибова Л.В. Теория и практика исследований в области биологии и промышленного культивирования съедобных грибов на кафедре микологии и альгологии МГУ. *Бюллетень Московского общества испытателей природы*. 2017. Т.109, №6. С. 102-105.

13. Гарибова Л.В. Пищевая и лечебно-профилактическая ценность съедобных грибов. *Успехи медицинской микологии*. 2017. Т.9. С. 236.

14. Голуб Г.А. Агропромислове виробництво їстівних грибів. Механіко-технологічні основи. К.: Аграрна наука, 2017. 331 с.

15. Горшина Е.С. Переработка молочной сыворотки в процессе глубинного культивирования съедобных базидиальных грибов. *Биотехнология на рубеже двух тысячелетий: материалы междунар. науч. конф.:* (Саранск, 12-15 сент. 2020). Саранск, 2020. С. 81-83.

16. Гігієнічна класифікація праці за показниками шкідливості та небезпечності факторів виробничого середовища, важкості та напруженості виробничого процесу. Охорона праці. №6. 1997. С. 20-26

17. Ґрунти. Визначання рухомих сполук фосфору і калію за модифікованим методом Чирикова : ДСТУ 4115–2002. [Чинний від 2003 –01–01]. К.: Держспоживстандарт України, 2018. 9 с. (Національний стандарт України).

18. Ґрунтознавство : підручник. / за ред. Д. Г. Тихоненка. К. : Вища освіта, 2015. 703 с.

19. Девочкина Н.Л. Промышленное грибоводство выгодно. *Земледелие*. 2014. №5. С. 9.

20. Єрух Є.І. Технологія вирощування гриба Ganoderma lucidum з метою отримання кормових антибіотиків. Сучасні технології агропромислового виробництва : матеріали І Міжнародної студентської науково-практичної інтернет конференції 19 листопада 2020 р. Кропивницький – Chișinău : ЦНТУ, 2020. С. 16-18

21. Жидков А.Н.Товарное производство грибов в фермерском хозяйстве. М.: Росинформагротех, 2012. 65 с.

22. Заколесник Н.В. Оптимизация питательных сред при глубинном культивировании высших базиломицетов. *Наук.вісн. Нац. техн.. ун-ту України «Київ. політехн. ін-т»*. 2016. №3. С. 118-122.

23. Зыков Д. Вырастим грибы по новым технологиям! *Главный агроном.* 2014. №4. С. 76-77.

24. Камзолкина О.В. Микроморфология и ультраструктура агарикоидных грибов на разных стадиях жизненных циклов: автореф.д-ра биол. наук: (03.00.24). МГУ. М., 2015. 49 с.

25. Карначук Р.А. Способ выращивания мицелия Ganodermalucidum.: патент 2446206 Россия, МПК 7 C12N 1/14, A01G 1/04. ТГУ. №2010143322/10; заявл. 21.10.10; опубл. 27.03.12 // Бюл. №9.

26. Карпов Ф.Ф. Как выбрать помещение для выращивания грибов. *Школа грибоводства*. 2020. №4. С. 19.

27. Карпов Ф.Ф. Подготовка воздуха в культивационных камерах зимой. *Школа грибоводства*. 2002. №5.С. 24-25.

28. Карпов Ф.Ф. Технические параметры тоннеля для аэробной ферментации субстратов. *Школа грибоводства*. 2018. №1. С. 20-24.

29. Кліматологічні стандартні норми. Український гідро-метеорологічний центр. Інформаційний сервер погоди. URL: https://meteo.gov.ua/ua/33391/climate/climate_stations/99/16/ (дата звернення: 28.11.2020).

30. Климова Е.В. Химический состав и пищевая ценность культивируемых дикорастущих грибов: обзор. (Польша). *Пищевая и перерабатывающая промышленность*: РЖ. 2017. №4. С. 12-38.

31. Клименко В.В. Качество и количество грибов в ваших руках. *Школа грибоводства*. 2018. №1. С. 22-24.

32. Круподьорова Т.А. Альтернативні субстрати для культивування лікарських та їстівних грибів. *Мікробіологія і біотехнологія*. 2017. №1. С. 47-56.

33. Кучерявий В.П. Біоекологічні особливості екстенсивного вирощування їстівних грибів на малоцінній деревині та відходах дерево-переробки. *Наук. вісн. НЛТУ України*. 2018. Вип. 18.12. С. 283-285.

34. Мельник Р.Г. Ефективність застосування різних форм азотних добрив якості мінеральних добавок для приготування синтетичних субстратів Agaricusbisporus. *Овочівництво і баштанництво*. 2017. Вип. 53. [б.с.].

35. Михайлова Л.И. Основные принципы завязывания грибов. *Школа грибоводства.* 2018. №2. С. 38-39.

36. Моделирование влияния физических и химических свойств материалов, используемых в качестве покрывающих слоев, на продуктивные параметры Agaricusbisporus. *Arch.Microbiol*. 2010. 192, N12. P. 1023-1030.

37. Морозов А. Культивування їстівних грибів як спосіб використання відходів лісової та деревообробної промисловості. *Проблеми сучасної екології: матеріали міжнар. конф. Запоріжжя*, 2020. С. 52-56.

38. Мухутдинова С.М. Использование грибных порошков различного состава в общественном питании. *Успехи современного естествознания*. 2017. №12. С. 336.

39. Остриков А.Н. Исследование усадки при сушке грибов перегретым паром. *Изв. вузов. Пищевые технологии*. 2018. №4. С. 62-63.

40. Паньковский Г.А. Сушка грибов перегретым паром атмосферного давления. *Пищевая и перерабатывающая промышленность*:РЖ. 2015. №3. С. 1006.

41. Петрова Л.А. Показатели качества посевного материала для культивирования грибов и методы их контроля. *Хранение и переработка сельхозсырья*. 2017. №9. С. 33-34.

42. Пешко М.С. Автоматизация технологического процесса культивации съедобных грибов. *ГАВРИШ*. 201*. №4. С. 18-21.

43. Полубояринов П.А. Влияние селенорганических параметров на рост мицелия культивируемых съедобных грибов.. *ГАВРИШ*. 2015. №4. С. 41-43.

44. Сидоренко Т.А. Исследование аминокислотного состава при сушке культивируемых грибов перегретым паром. *Пищевая и перерабатывающая промышленность*: РЖ. 2016. №3. С. 860.

45. Степанова Н.Д. Снижение содержания ртути в съедобных грибах после термообработки при 300ºС за счет ее улетучивания (опыты с польским грибом и маховиком пестрым). (Чехия). *Экологическая безопасность в АПК*: РЖ. 2017. №1. С. 260.

46. Тесты по культивированию некоторых съедобных, обитающих на древесине грибов в Киншасе (Конго) на разных лигноцеллюлозных субстратах . *Biotechnol.,agr. soc. etenviron*. 2018. 14, N3. P. 417-422.

47. Товмаш А.В. Способ тиражирования мицелия.: патент 2319369 Россия, МПК 7 A01G 1/04. ФГУП. №2005127208/13; заявл. 30.08.05; опубл. 20.03.08. // Бюл. №8.

48. Физические свойства почв, пригодных для выращивания Tuberma gnatumна флювиальных ландшафтах. *Plantand Soil*. 2018. 329, N1-2. P. 51-63.

49. Филиппова И.А. Высшие грибы – перспективные источники биологически активных веществ. *Международный вест ник ветеринарии*. 2018. №3. С. 49-53.

50. Фомина В.И. Влияние тяжелых металлов на плодоношение съедобного лекарственного гриба сиитаке (Lentinus edodes (Berk.)Sing). *Екологія довкілля та безпека життєдіяльності*. 2017. №6. С. 83-87.

51. Фомина В.И. Особенности аккумуляции различными видами съедобных грибов при разных способах культивирования. *Екологія довкілля та безпека життєдіяльності*. 2018. №4. С. 17-20.

52. Фомина В.И. Влияние тяжелых металлов на плодоношение съедобного лекарственного гриба сиитаке (Lentinus edodes (Berk.)Sing) при интенсивном культивировании. *Екологія довкілля та безпека життєдіяльності*. 2017. №6. С. 83-87.

53. Хлопцева Р.И. Сравнительная оценка эффективности использования трех регуляторов роста насекомых и штамма BacillusThuringiensis, активного в отношении комарика Lycoriella Auripila, против вредителей при выращивании шампиньона. (Великобритания). *Экологическая безопасность в АПК*: РЖ. 2020. №3. С. 696.

54. Хренов А.В. Китайская грибная индустрия на пути к переменам. *Школа грибоводства*. 2018. №1(61). С. 18.

55. Хренов А.В. Наш национальный проект. *Школа грибоводства*. 2018. №1 С. 32-33.

56. Цапалова И.Э. Дикорастущие съедобные грибы как источник белковых веществ. *Изв. вузов. Пищевые технологии*. 2014. №1. С. 64-65.

57. Цизь А. Эффективность внесения органических азотосодержащих добавок в субстраты для культивирования шампиньона двухспорового. *Овощеводство и тепличное хозяйство*. 2019. №6. С. 53-54.

58. Челищев А.Г. Выращивание грибов дома и на участке: [Выращивание шампиньонов в подвальном помещении. Выращивание шампиньонов в саду и огороде. Выращивание вешенки на древесине. Грибы на соломе, опилках, стружках. Использование грибов]. М.: Изд. Дом МСП, 2018. 63 с.

59. Черняк М.И. Разработка и внедрение рецептур молочных продуктов с использованием нетрадиционного растительного сырья и биологически активных добавок. *Пищевая и перерабатывающая промышленност*ь: РЖ. 2020. №2. С. 705.

60. Шампиньоны с достаточным содержание селена. *Champignon*. 2018. N466. S. 21.

61. Штаммы Trichoderma губительные для производства шампиньонов J. *Plant Pathol*. 2013. 85, N4. S. 303.

62. Экспериментальное изучение технологических параметров лиофильной сушки гриба / GongY., WahgB., LinJ. Etal. *Trans. Chin. Soc. Agr. Eng*. 2014. 20, N1. P. 226-229.

63. Экспертиза грибов: учеб.-справ. пособие / под. ред Цапалова И.Э Новосибирск: Изд-во Новосиб. ун-та, 2018. 256 с.

64. Экологический налог в шампиньоноводстве и стоимость продукции. (ФРГ). *Экологическая безопасность в АПК*: РЖ. 2018. №1. С. 226.

65. Эффективность использования препарата немацель на базе нематод SteinernemaFeltiae для работы с грибными комариками Lycoriel laspp. при промышленной культуре шампиньонов. (ФРГ). Экологическая безопасность в АПК: РЖ. 2020. №1. С. 226.

66. Эффективность использования прохлораза марганца и биофунгицида тиморекс на основе масла чайного дерева против паутинистой плесени шампиньона двуспорового, вызываемой грибом Cladobotryumdeneroides. Биологический контроль инвазивных организмов: VIсъезд по защите растений с симпоз. Zlatibor, 2019. Kn. 2. P. 42-47.

67. Якість ґрунту. Методи визначання органічної речовини : ДСТУ 4289:2004. [Чинний від 2005.07.01]. К. : Держспоживстандарт України, 2005. – 14 с. (Національний стандарт України).

68. Якість ґрунту. Визначання нітратного і амонійного азоту в модифікації ННЦ ІГА ім. О. Н. Соколовського : ДСТУ 4729:2007. [Чинний від 2008.01.01]. К. : Держспоживстандарт України, 2008. 14 с. (Національний стандарт України).

69. Якість ґрунту. Визначення pH (ISO 10390:2005, IDT) : ДСТУ ISO 10390:2007. [Чинний від 2009.10.01]. К. : Держспоживстандарт України, 2012. 8 с. (Національний стандарт України).

70. Якість ґрунту. Визначання рухомих сполук фосфору і калію за методом Кірсанова в модифікації ННЦ ІГА : ДСТУ 4405:2005. [Чинний від 2006. 07.01]. К. : Держспоживстандарт України, 2006. 12 с. (Національний стандарт України).

71. Якість ґрунту. Визначення вмісту рухомих сполук кадмію в ґрунті в буферній амонійно-ацетатній витяжці з pH 4,8 методом атомно-абсорбційної спектрофотометрії : ДСТУ 4770.3:2007. [Чинний від 2009.01.01]. К. : Держспоживстандарт України, 2009. 14 с. (Національний стандарт України).

72. Якість ґрунту. Визначення вмісту рухомих сполук свинцю в ґрунті в буферній амонійно-ацетатній витяжці з pH 4,8 методом атомно-абсорбційної спектрофотометрії : ДСТУ 4770.9:2007. [Чинний від 2009.01.01]. . К. : Держспоживстандарт України, 2009. .14 с. (Національний стандарт України).

73. Якість ґрунту. Визначення вмісту рухомих сполук міді в ґрунті в буферній амонійно-ацетатній витяжці з pH 4.8 методом атомно-абсорбційної спектрофотометрії : ДСТУ 4770.6:2007. . [Чинний від 2009.01.01]. К. : Держспоживстандарт України, 2008. 14 с. (Національний стандарт України).

74. Якість ґрунту. Визначення вмісту рухомих сполук цинку в ґрунті в буферній амонійно-ацетатній витяжці з pH 4.8 методом атомно-абсорбційної спектрофотометрії : ДСТУ 4770.2:2007. [Чинний від 2009.01.01]. К. : Держспоживстандарт України, 2009. 14 с. (Національний стандарт України).

75. Damiecka J. Качество плодовых тел шампиньона для переработки и способы культивирования. Przem. spoz. 2016. 60, N12. S. 38-40.

76. Demirer T. Влияние различных форм и доз азотних удобрений на урожай и показатели качества шампиньона (Agaricus bisporus (lange) sing) при культивировании на компосте на основе пшеничной соломы J. Agr. And Rur. Dev. Trop. And Subtrop. 2015. 106, N1. C. 71-77.

77. Dergham Y. Повышение урожаев шампиньонов добавлением водоудерживающего гидрогеля stockosorb в покровный субстрат Champignon. 2020. N417. S. 250-252.

78. β-аденозин, биологически активное соединение в мелко нарезанной соломе плевела, стимулирующее продукцию грибов. *Phytochemistry*. 2014. 65, N2. P. 181-187.

79. Largeteau M.L. Влияние грибного патогенна Verticilliumfungicolalna инициацию плодоношения его хозяина Agaricus. *Mycol. Res*. 2018. 112, N7. – P. 825-828.

80. Lin Xiu-lan. Изучение культивирования съедобных и лекарственных грибов со смешанными экстрактами остатков видов р. Casuarina. *Forest*. 2020. 20, N3. P. 223-226.

81. Ortega-Martinez P. Метод оценки продуктивности плодовых тел съедобных дикорастущих грибов, исходя из общественного и экономического интереса. Invest. agr. Sist.yrecurs. *Forest*. 2018. 17, N3. P. 228-237.

82. Pardo A. Бактериальная активность в различных типах покрытий при выращивании гриба Agaricusbisporus (Lange) Imbach. *Actaalim*. 2017. 31, N4. P. 327-342.

83. Pardo A. Приготовление, характеристика и оценка компостированных побегов винограда в качестве почвенной добавки при культивировании грибов *Biol. Agr. And Hort*. 2017. 19, N4. P. 377-391.

84. Petrova L.A. Показатели качества посевного материала для культивирования грибов и методы их контроля. *Хранение и переработка сельхозсырья*. 2018. №9. С. 33-34.

85. Pegler D.N. Полезные грибы в мире: сморчки и трюфели. *Mycologist*. 2017. 17, N4. P. 174-175.

86. Shekkhawat M.S. Съедобные грибы и технологии их возделывания. *Everyman's Sci*. 2020. 35, N3. P. 108-114.

87. Smith John E. Медицинские съедобные грибы: быстро развивающаяся область биотехнологии для терапии рака и других биоактивностей. *Biotechnol. Lett*. 2018. 24, N22. P. 1839-1845.

88. Vernooij Eric M.M. Покровный слой – важная часть субстрата: подготовка и уход за покровным слоем. *Champignon*. 2009. N468. P. 15-20.

89. Yun Wang. Съедобные эктомикоризные грибы: проблемы и достижения. *Can. J. Bot*. 2017. 82, N8. P. 1063-1073.

ДОДАТОК

Додаток А

Таблиця !

Склад поживного середовища

Компоненти	*Концентрація*		*Компоненти*	*Концентрація*	
	мг/л	*мМ*		*мг/л*	*мМ*
Солі (збалансований сольовий розчин Ерла)					
NaCl	6800	100			
KCl	400	5	*Вітаміни*		
$CaCl_2$	200	1	Біотин	1	10^{-3}
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	200	0,5	Холінхлорид	1	10^{-3}
$NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$	150	1	Інозит	2	$2 \cdot 10^{-3}$
$NaHCO_3$	2000	20	Нікотинамід	1	10^{-3}
Амінокислоти			Фолієва кислота	1	10^{-3}
Arg–HCl	21	0,1			
Cys	12	0,05	Пантотенат кальцію	1	10^{-3}
Gln	292	2,0			
His–HCl	9,5	0,05	Рибофлавін	0,1	10^{-4}
Ile	26	0,2	Тіамін	1	10^{-3}
Leu	26	0,2	*Добавки*		
Lys–HCl	36	0,2	Глюкоза	1000	5
Met	7,5	0,05	Пеніцилін	0,005%	
Phe	18	0,1	Стрептоміцин	0,005%	
Thr	24	0,2	Феноловий червоний	0,0005%	
Trp	4	0,02			
Tyr	18	0,1	Сироватка (діалізована)	5%	
Val	24	0,2			

Додаток Б

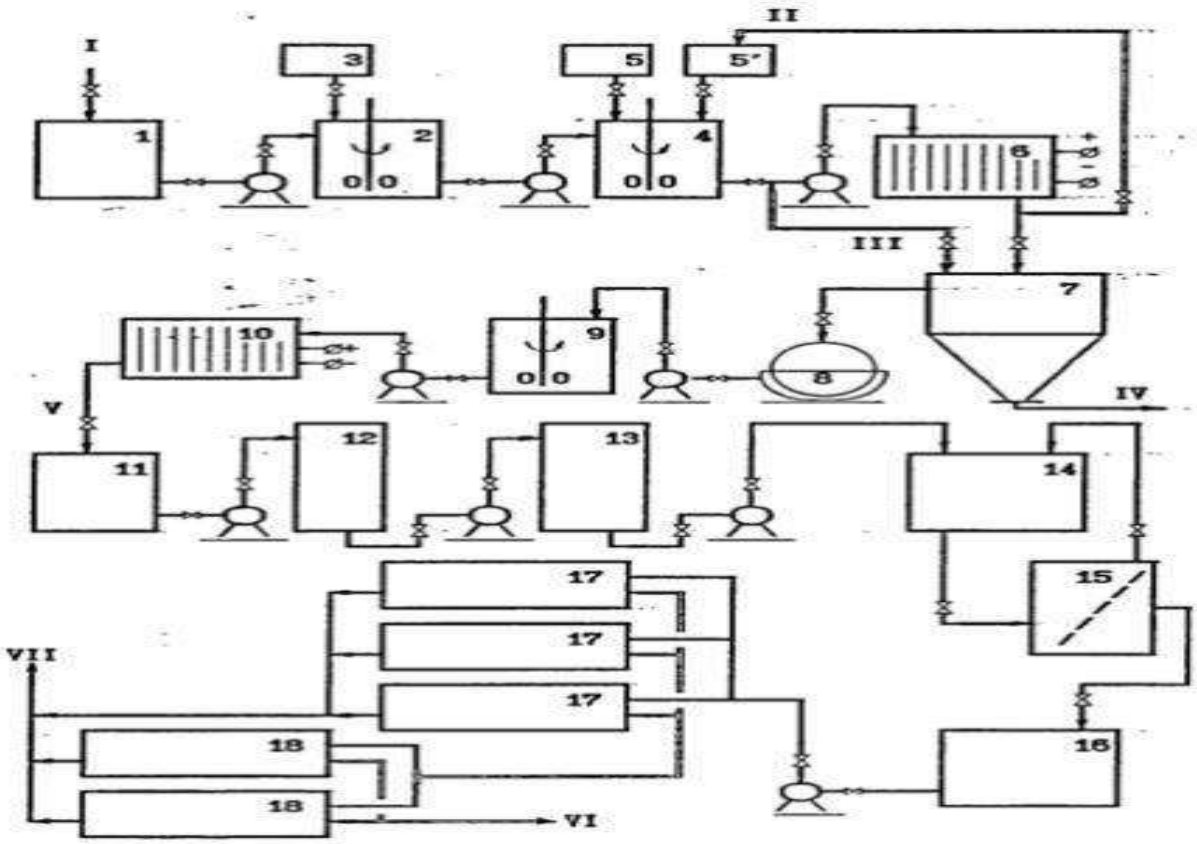

Рис. 1. Технологічна схема локальної очистки стічних вод у виробництві антибіотиків.

На цій схемі: 1 – ємність для СВ; 2 – реакторзмішувач для відпрацювання відпрацьованого нативного розчину (ВНР) H_2O_2; 3 – ємність для H_2O_2; 4 – реактор змішувач для підготовки ВНР до електрокоагуляції; 5 – ємності для HCl, NaOH, розсілу чи оксосульфату алюмінію; 6 – електрокоагулятор; 7 – реакторвідстійник; 8 – вакуум-барабанний фільтр; 9 – приймальна ємність-реактор; 10 – електродеструктор; 11 – приймальна ємність для очищеного ВНР; 12 – пісчаний фільтр; 13 – фільтр з БАУ; 14 – ємність-зосереджувач; 15 – установка ультрафільтраційної очистки; 16 – приймальна ємністьзосереджувач; 17, 18 – установки зворотнього осмосу 1-го та 2-го ступеню.

Потоки:

I– ВНР; II – розчин оксосульфату алюмінію; III – ВНР, відпрацьований оксосульфатом алюмінію; IV – осад; V – очищений ВНР; VI – розсільний концентрат; VII – очищена вода.