

УДК 581.6:582.284

Биоконверсия цветочно-травянистых отходов эфирномасличного производства штаммами *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) и *Agaricus bisporus* (Lge.)

Семенова Е. Ф.¹, Карасева Е. В.², Назаров В. В.¹,
Маркелова Н. Н.³, Курдюков Е. Е.²

¹ Крымский федеральный университет имени В. И. Вернадского
Симферополь, Россия
sef1957@mail.ru, vvn22222@mail.ru

² Пензенский государственный университет
Пенза, Россия
lenochek_zhuchenko@mail.ru, e.e.kurdyukov@mail.ru

³ Научно-исследовательский институт по изысканию новых антибиотиков имени Г. Ф. Гаузе
Москва, Россия
nataljamarkelova@yandex.ru

Современные подходы, которые применяются к разработке безотходных, экологически чистых технологий для эфиромасличных культур, направлены на вторичную переработку сырья в виде зеленой массы растений, идущей после извлечения эфирного масла на выброс в количестве 160–220 тыс. т/год. В результате биотехнологических исследований, проведенных при различных режимах влажности в контролируемых условиях получены новые данные по биоконверсии крупнотоннажного цветочно-травянистого сырья после переработки. Впервые выявлены виды отходов эфирномасличного производства, оптимальные для выращивания мицелия съедобных грибов. Отмечено, что наилучшим субстратом для рациональной биоконверсии является зеленая масса шалфея мускатного после экстракции. Проведенные исследования показали, что утилизация твердых отходов переработки лаванды, розы, шалфея, мяты практически не зависит от видовой принадлежности базидиомицетов. Однако, имеется тенденция к штаммовой специфичности грибов *Agaricus bisporus*, *Lentinus edodes*; *Pleurotus ostreatus*, отличающихся более высоким содержанием серосодержащих аминокислот (5–6 г на 100 г белка) и низкой концентрацией нуклеиновых кислот (1,6–2,5 % от сухого вещества). Следует отметить высокий уровень накопления октен-3-ола (основного компонента, обуславливающего запах съедобных грибов) штаммами *P. ostreatus* (до 1,38 г/кг субстрата), подтвержденный органолептической оценкой культур. Анализ кормовой ценности (содержание протеина, витаминов, фосфора и др.) вторичных растительных отходов после выращивания на них грибного мицелия свидетельствует о повышении их качества в 2–5 раз. Полученные результаты позволяют рекомендовать культивирование мицелия съедобных грибов на твердой фазе отходов переработки мяты перечной, лаванды настоящей, шалфея мускатного для производства полноценной (обогащенной белками и витаминами) биомассы кормового назначения. Кроме того, проведенная работа может служить основанием для создания технологии плодовых тел грибов с использованием вторичных материальных ресурсов эфирномасличного производства в качестве начального этапа выращивания шампиньона и вешенки как продуктов функционального питания.

Ключевые слова: биоконверсия, экологически чистая технология, рациональное использование вторичных ресурсов, цветочно-травянистые отходы эфирномасличного производства, съедобные базидиальные грибы.

ВВЕДЕНИЕ

В разных странах мира в последнее время из-за дефицита и роста стоимости белка (особенно животного происхождения) уделяют большое внимание переработке лигноцеллюлозных материалов в высокобелковые кормовые и пищевые добавки с помощью различных микроорганизмов. Объясняется это почти неограниченными возможностями получения белка в виду того, что у микроорганизмов, имеющих короткий цикл развития, продуктивность в несколько тысяч раз превышает этот показатель у животных и растений. Важным преимуществом является и то, что микроорганизмы можно культивировать на растительных субстратах, ресурсы которых велики и стабильны, так как ежегодно восполняются. В последние 25–30 лет значительно интенсифицировалось изучение

ароматообразующих базидиальных грибов, вызванное потребностью пищевой и комбикормовой промышленностью в новых путях получения натуральных продуктов и биологически активных добавок для удовлетворения спроса населения и животноводства (Janssens et al., 1992; Krings, Berger, 1998; Семенова, Богданов, 2000). Современные подходы, которые применялись к разработке безотходных технологий для эфиромасличных культур, были направлены на вторичную переработку сырья в виде зеленой массы растений, идущей после извлечения эфирного масла на выброс. Наиболее крупнотоннажным сырьем, из которого получали тонны, десятки тонн эфирных масел, были такие эфирносы, как лаванда, шалфей, мята, роза. Поэтому перспективным сырьем для получения белковых продуктов могут быть признаны и растительные отходы эфиромасличного производства, количество которых после переработки цветочно-травянистого сырья составляет 160–220 тыс. т/год (Паштецкий и др., 2017). В связи с этим разработка биотехнологического использования отходов эфирномасличной промышленности приобретает особую актуальность.

Цель работы – рациональная биоконверсия менее ценных компонентов твердой фазы отходов переработки эфирномасличных растений в более ценные путем культивирования мицелия съедобных базидиомицетов в различных условиях.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Объектами исследования служили штаммы базидиальных грибов, полученные из коллекций Института ботаники имени Н. Г. Холодного (Украина), Института микробиологии и вирусологии имени Д. К. Заболотного (Украина), Института биохимии и физиологии микроорганизмов имени Г. К. Скрябина (Россия): *Agaricus bisporus* IBK (ИБК) 459, *Lentinus edodes*; *Pleurotus ostreatus* Kum. IMV (ИМВ) F1300, VKM (ВКМ) F2008 (ИБК 109).

Культивирование грибов (поддержание рабочей коллекции, выращивание посевного материала) осуществляли на известных средах (Практикум по биохимии и физиологии грибов, 2018). В экспериментах основным субстратом для выращивания мицелия служил растительный материал розы эфирномасличной, лаванды настоящей, шалфея мускатного, мяты перечной после извлечения целевых продуктов методом дистилляции и (или) экстракции в заводских и лабораторных условиях.

Выделение ароматообразующих соединений осуществляли методами экстракции и дистилляции. Для количественного определения эфирного масла использовали методику, предложенную в Государственной фармакопее XIV издания (2018). Определение компонентного состава извлеченного масла проводили на хроматографах «Хром-5», «Кристалл 2000М» с пламенно-ионизационным детектором на полярной колонке (Гуринович, Пучкова, 2005).

Математическую обработку данных проводили с помощью статистической программы STATISTICA 10.0 (Платонов, 2000) при уровне значимости $P=0,95$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Наиболее перспективными с целью получения натуральных пищевых ароматизаторов являются культуры базидиомицетов, поскольку они способны накапливать промышленно важные и биологически активные метаболиты (табл. 1). Они представляет интерес как продуценты летучих душистых веществ с «грибным» ароматом, который обусловлен алифатическими 8-углеродными соединениями (1-октен-1-ол, 1-октен-3-он, 1-октен-3-ол, 3-октанол и др.), некоторыми пиразинами и пирролами. При глубинном культивировании могут быть использованы в производствах пищевой промышленности для получения натуральных ароматизаторов с грибным запахом (Demain, 1999). Кроме того, штаммы *Agaricus bisporus*, *Lentinus edodes*; *Pleurotus ostreatus*, отличаются от других микроорганизмов (Thorp, Bowes, 2016) более высоким содержанием серосодержащих аминокислот (5–6 г на 100 г белка) и низкой концентрацией нуклеиновых кислот (1,6–2,5 % от сухого вещества).

Таблица 1

Результаты ароматообразующей оценки некоторых исследованных видов базидиомицетов

Таксономическое положение	Синтезируемые летучие душистые вещества	Запах	Уровень накопления ароматического продукта, мг/л
<i>Agaricus bisporus</i> (Agaricaceae)	3-метилбутаналь, 3-октанон, 1-октен-3-он, 3-октанол, 1-октен-3-ол, фурфураль, бензальдегид, фенилацетальдегид, бензиловый спирт	сильный грибной	70,3–230,0
<i>Lentinus edodes</i> (Polyporaceae)	лентионин, 1-октен-3-ол, 1-октен-3-он	грибной	46,7–101,9
<i>Pleurotus ostreatus</i> (Pleurotaceae)	1-октен-3-ол, 1-октен-3-он	грибной	95,3–210,4

Грибной белок, аминокислотный состав которого соответствует нормам ФАО, легко усваивается без предварительной обработки. Грибной белковый продукт в качестве кормовой добавки содержит ароматические вещества, которые придают ему приятный запах и тем самым улучшают органолептические свойства и потребление организмом. Следует также отметить и другие достоинства: значительное количество минеральных солей калия, фосфора, железа, кальция; наличие витаминов, не разрушающихся при физико-химическом воздействии; содержание ряда биологически активных веществ, влияющих на процессы обмена (снижают уровень холестерина в крови) и обладающих лечебными свойствами.

Отработка рациональной биоконверсии менее ценных компонентов твердой фазы отходов переработки эфирномасличных растений: розы эфирномасличной, лаванды настоящей, шалфея мускатного, мяты перечной в более ценные путем культивирования мицелия съедобных базидиомицетов при двух режимах влажности воздуха в культиваторе представлена на рисунках 1 и 2. Исследования показали, что утилизация твердых отходов переработки лаванды, шалфея и мяты возможна при биотрансформации базидиальными грибами и практически не зависит от их видовой принадлежности, но есть тенденция к штаммовой специфичности. Лучшим питательным субстратом для развития мицелия в условиях 100 % относительной влажности воздуха является растительный материал мяты после паровой перегонки с его последующим экстрагированием. Через 2 недели инкубации субстрат был полностью пронизан белыми нитями – гифами и имел четко выраженный грибной аромат. Однако высокой скоростью роста (в 2 раза выше) изучаемые штаммы обладали при утилизации отходов шалфея мускатного после экстракции: в течение одной недели гифы мицелия пронизывали весь субстрат (табл. 2).

Следует отметить высокий уровень накопления октен-3-ола (основного компонента, обуславливающего запах съедобных грибов) при культивировании штаммов *Pleurotus ostreatus*, подтвержденный органолептической оценкой культур. Изученные штаммы базидиомицетов в глубинной культуре также накапливали большие количества биомассы, например, биомасса штамма *P. ostreatus* ИМВ F1300 в течение 6 суток достигала 16 г на кг субстрата. Однако, уровень накопления ароматообразующих соединений прямо зависел от этого показателя: штаммом *Agaricus bisporus* ИБК 459 в течение 3 суток при биомассе 2,34 г/кг синтезировалось 30,0 мг/кг эфирного масла, а через 6 суток при биомассе 11,86 г/кг образовалось 41,4 мг/кг эфирного масла и 262,0 мг/кг экстракта.

Установлено, что мицелиальная масса съедобных грибов сохраняла грибной аромат после сушки в процессе длительного хранения (до 10 лет), а также при кулинарной обработке,

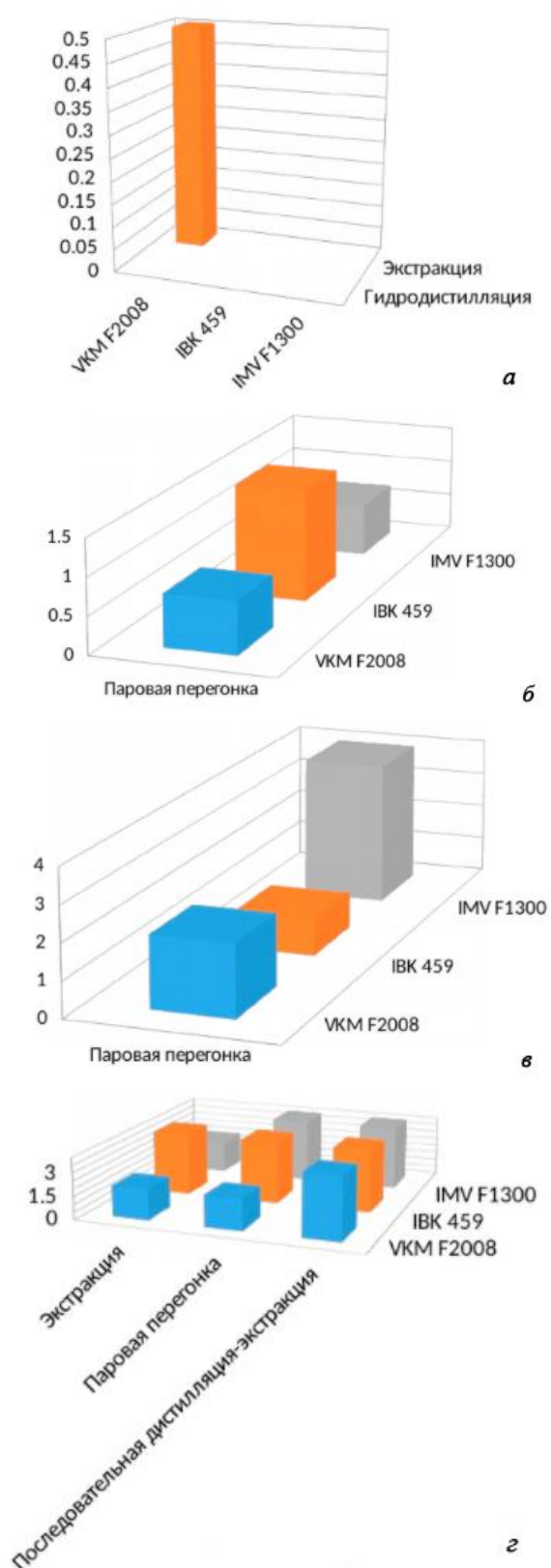


Рис. 1. Степень развития грибовидной штаммы базидиомицетов в различных субстратах – отходах переработки цветочно-травянистого эфирномасличного сырья при влажности воздуха 50 %: розы эфирномасличной (а); лаванды настоящей (б); шалфея мускатного (в); мяты перечной (г)

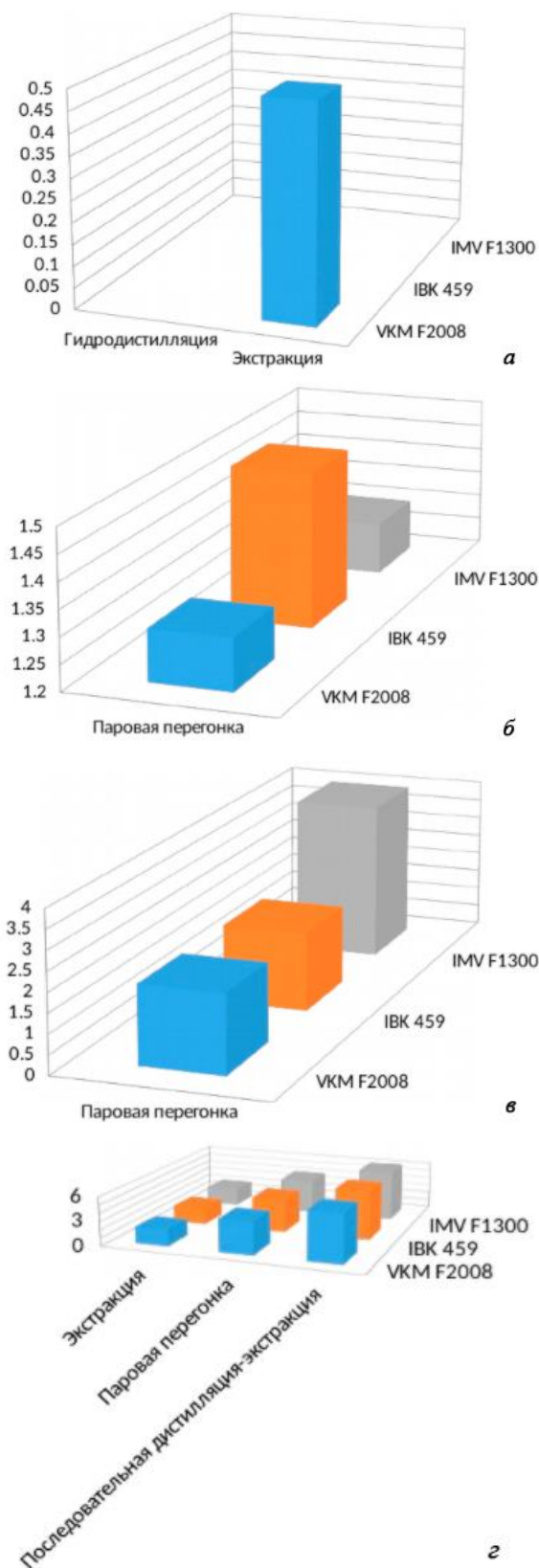


Рис. 2. Степень развития грибницы базидиомицетов в различных субстратах – отходах переработки цветочно-травянистого эфирномасличного сырья при влажности воздуха 100 %: розы эфирномасличной (а); лаванды настоящей (б); шалфея мускатного (в); мяты перечной (г)

Таблица 2

Биосинтетическая активность базидиомицетов при твердофазном культивировании

Субстрат	Штамм	Выход ЭЭ, мг/кг субстрата	Выход октен-3-ола, мг/кг субстрата	Содержание октен-3-ола, % в ЭЭ
<i>Pleorotus ostreatus</i>				
ОШЭ	ИМВ F1300	580	570	98,2
ОШЭ	ВКМ F2008	1450	1380	95,1
<i>Agaricus bisporus</i>				
ОШЭ	ИБК 459	490	420	85,7

Примечание к таблице. ЭЭ – эфирный экстракт, ОШЭ – отходы шалфея после экстракции.

Таблица 3

Кормовая ценность вторичных растительных отходов цветочно-травянистого сырья после выращивания базидиомицетов

Субстрат	Штамм	Протеин, %	Витамин С, %	Каротиноиды, %	Токоферолы, %	Фосфор, %	Хлорофилл, %
ОМДЭ	ИМВ 1300	12,18–25,07	0,007–0,015	0,07–0,54	0,60–1,03	0,42–0,52	1,60–6,98
ОРЭ	ВКМ 2008	15,83–28,97	0,250–0,570	0,11–0,78	0,59–1,22	0,34–0,48	0,02–0,10
ОЛД	ИБК 459	14,28–32,70	0,002–0,018	0,03–0,50	0,06–0,09	0,50–0,72	1,54–2,05

Примечание к таблице. ОРЭ – отходы розы после экстракции, ОМДЭ – отходы мяты после дистилляции и последующей экстракции; ОЛД – отходы лаванды после дистилляции.

в частности, кипячении в течение 10–15 минут, что позволяет использовать ее в пищевых целях. Результаты анализов кормовой ценности (содержание протеина, витаминов, фосфора и др.) вторичных растительных отходов после выращивания на них грибного мицелия свидетельствуют о повышении их качества в 2–5 раз (табл. 3).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Современные подходы, которые применяются к разработке безотходных, экологически чистых технологий для эфиромасличных культур, направлены на вторичную переработку сырья в виде зеленой массы растений, идущей после извлечения эфирного масла на выброс в количестве 160–220 тыс. т/год. В результате биотехнологических исследований, проведенных при различных режимах влажности в контролируемых условиях получены новые данные по биоконверсии крупнотоннажного цветочно-травянистого сырья после переработки. Впервые выявлены виды отходов эфирномасличного производства, оптимальные для выращивания мицелия съедобных грибов. Отмечено, что наилучшим субстратом для рациональной биоконверсии является зеленая масса шалфея мускатного после экстракции. Следует отметить высокий уровень накопления октен-3-ола (основного компонента, обуславливающего запах съедобных грибов) штаммами *P. ostreatus* (до 1,38 г/кг субстрата), подтвержденный органолептической оценкой культур. Анализ кормовой ценности (содержание протеина, витаминов, фосфора и др.) вторичных растительных отходов после выращивания на них грибного мицелия свидетельствует о повышении их качества в 2–5 раз.

Полученные результаты позволяют рекомендовать культивирование мицелия съедобных грибов на твердой фазе отходов переработки мяты перечной, лаванды настоящей, шалфея мускатного для производства полноценной, обогащенной белками и витаминами, биомассы кормового назначения. Кроме того, проведенная работа может служить основанием для создания технологии плодовых тел грибов с использованием вторичных материальных ресурсов эфирномасличного производства в качестве начального этапа выращивания шампиньона и вешенки как продуктов функционального питания (Амброзевич, 2005).

Список литературы

- Амброзевич Е. Г. Особенности европейского и восточного подходов к ингредиентам для продуктов здорового питания // Пищевые ингредиенты, Сырье и добавки. – 2005. – № 1. – С. 30–31.
- Государственная фармакопея Российской Федерации. МЗ РФ. XIV издание. Т. 4. – М., 2018. – С. 6284-6292.
- Гуринович Л. К., Пучкова Т. В. Эфирные масла: химия, технология, анализ и применение. – М.: Школа Косметических химиков, 2005. – 192 с.
- Паштецкий В. С., Невкрытая Н. В., Мишнев А. В., Назаренко Л. Г. Эфиромасличная отрасль Крыма. Вчера, сегодня, завтра. – Симферополь: ИТ «Ариал», 2017. – 244 с.
- Платонов А. Е. Статистический анализ в медицине и биологии: задачи, терминология, логика, компьютерные методы. – М.: Из-во РАМН, 2000. – 52 с.
- Практикум по биохимии и физиологии грибов / [Ред. проф. А. В. Кураков]. – М.: Изд. Биологический факультет МГУ имени М. В. Ломоносова, 2017. – 220 с.
- Семенова Е.Ф., Богданов Н. И. Некоторые результаты биотехнологии ароматических продуктов // Сб. трудов «Инновационные технологии и продукты». – Новосибирск, 2000. – Вып. 4. – С. 9–13.
- Demain A. L. Metabolites, Primary and Secondary // Encyclopedia of Bioprocess Technology: Fermentation, Biocatalyst and Boiseparation. [Eds. M. C. Flickinger, S. W. Draw]. – Wiley Interscience, John Wiley and Sons Inc., New York, USA, 1999. – V. 3. – P. 1713–1732.
- Krings U., Berger R. G. Biotechnological production of flavours and fragrances // Applied Microbiology and Biotechnology. – 1998. – V. 49. – P. 1–8.
- Janssens L., De Pooter H. L., Schamp N. M., Vandamme E. J. Production of flavours by microorganisms // Process Biochemistry. – 1992. – V. 27. – P. 195–215.
- Thorp J. M., Bowes R. E. Carbon sources in riverine food webs: new evidence from amino acid isotope techniques. Ecosystems. – 2016. – N 20 (5). – P. 1029–1041.

Semenova E. F., Karaseva E. V., Nazarov V. V., Markelova N. N., Kurdyukov E. E. Bioconversion of flower-herbaceous waste of essential oil production by strains *Pleurotus ostreatus* (Jacq.) and *Agaricus bisporus* (Lge.) // Ekosistemy. 2021. Iss. 28. P. 115–121.

Modern approaches to the development of waste-free, environmentally friendly technologies for essential oil crops are aimed at recycling solid residues, which after the extraction of essential oil are destroyed in the amount of 160-220 thousand tons per year. As a result of biotechnological studies conducted in a controlled environment with various levels of humidity, new data were obtained on the bioconversion of large tonnage of floral-herbaceous raw materials after the extraction of essential oils. For the first time, certain types of solid residues from essential oil production that are optimal for growing mycelium of edible mushrooms have been identified. The best substrate for rational bioconversion is the solid residue after the extraction of clary sage. Studies have shown that the recycling of solid residues after processing lavender, rose, sage, mint practically does not depend on the species of Basidiomycetes. However, there is a tendency towards strain specificity of *Agaricus bisporus*, *Lentinus edodes*, *Pleurotus ostreatus*, which are distinguished by a higher content of sulfur-containing amino acids (5–6 g per 100 g of protein) and a low concentration of nucleic acids (1.6–2.5 % per dry matter). It should be noted that the high level of octen-3-ol accumulation (the main component responsible for the smell of edible mushrooms) by *P. ostreatus* strains (up to 1.38 g per 1 kg of substrate), confirmed by organoleptic assessment of cultures. Analysis of nutritional value (content of protein, vitamins, phosphorus, etc.) of fodder from solid residues after growing mushroom mycelium on them indicates an increase in their quality by 2–5 times. The results obtained make it possible to recommend the cultivation of edible mushrooms mycelium on the solid residues created after processing peppermint, lavender, clary sage to produce fodder enriched with proteins and vitamins. In addition, the study conducted can serve as the basis for creating a technology for cultivating fungal fruiting bodies using solid waste residues from essential oils production as an initial stage in growing *A. bisporus* and *P. ostreatus* as functional foods.

Key words: bioconversion, environmentally friendly technology, rational use of secondary resources, flower and herbaceous waste of essential oil production, edible basidiomycetes.

Поступила в редакцию 15.11.21
Принята к печати 15.12.21