

УДК 615.012.6:582.284:664.6

Т.С. Іванова, Н.А. Бісько, Т.А. Круподьорова, В.Ю. Барштейн

## ОСОБЛИВОСТІ ГЛИБИННОГО КУЛЬТИВУВАННЯ *GANODERMA LUCIDUM* (CURTIS) P. KARST. НА ХЛІБНІЙ КРИХТІ

In the present paper, we investigate biomass, exopolysaccharide, phenols, organic acids, reducing and dry substances accumulation and pH of cultured broth during submerged cultivation of *G. lucidum* 1900 on bread crumbles. It shows the future prospects and the possibility of using this waste from the food industry in Ukraine. We demonstrate that maximal biomass and exopolysaccharide concentration can be obtained on the 15<sup>th</sup> day of cultivation ( $18,10 \pm 0,2$  and  $5,2 \pm 0,3$  g/l correspondingly). Our research results show that different carbon sources of bread crumbles result in two pics of growth speed and reducing substances accumulation of cultured broth. According to the calculated growth speed, specific growth speed, specific substrate bioconversion efficiency and metabolic coefficient calculations, the most intensive processes of biomass production occur before the 6th day of cultivation, however maximal biomass biosynthesis speed, specific speed and productivity was before the 9<sup>th</sup> day of cultivation.

### Вступ

Лікарські базидіальні гриби – це збалансований природою комплекс біологічно активних речовин. Культивування грибів у штучних умовах дає можливість отримати екологічно чисту сировину, яку в подальшому можна використати для створення функціональних харчових продуктів, харчових продуктів для спеціального дієтичного споживання, харчових та дієтичних добавок. Більшість препаратів грибного походження у світі виробляється на основі плодкових тіл, проте, культивування міцелію на рідких поживних середовищах відбувається значно швидше, потребує менш жорстких умов та піддається оптимізації і стандартизації [1]. Відходи харчової промисловості – це перспективні доступні субстрати для вирощування грибів. Використання цих відходів дає змогу не тільки отримати сировину для створення харчової продукції, але й вирішити одну з екологічних проблем країни.

Лікувально-профілактичні властивості базидіального гриба *Ganoderma lucidum* (Curtis) P. Karst. використовували в народній медицині Китаю та Японії ще з давніх часів. Відомі такі лікарські властивості цього гриба: протипухлинні, імуностимулюючі, протизапальні, протівірусні, антибактеріальні, гепатопротекторні тощо [1]. Серед речовин *G. lucidum*, що проявляють фізіологічно активну дію, найважливішими є полісахариди, полісахарид-глюканові комплекси, терпеноїди та лектини [1].

### Постановка задачі

Метою роботи є дослідження динаміки накопичення біомаси та метаболітів *G. lucidum* (Curtis) P. Karst. 1900 при глибинному культиву-

ванні на хлібній крихті, а також встановлення кінетичних параметрів процесу культивування.

### Матеріали та методи дослідження

Об'єктом досліджень був штам *G. lucidum* (Curtis) P. Karst. 1900 з Колекції культур шапинкових грибів Інституту ботаніки ім. М.Г. Холодного НАН України (ІВК) [2]. Субстратом для глибинного культивування була хлібна крихта (Хлібокомбінат № 12, ВАТ "Київхліб", м. Київ). Хлібна крихта належить до виробничо-технологічних відходів при виробництві хліба [3], об'єми яких лише на одному Хлібокомбінаті № 12 становлять до 7 т на місяць.

Як посівний матеріал використовували гоомогенізований міцелій, вирощений на чашках Петрі з агаризованим глюкозо-пептон-дріжджовим середовищем (г/л): глюкоза – 25,0; пептон – 3,0; дріжджовий екстракт – 2,0;  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  – 1,0;  $\text{K}_2\text{HPO}_4$  – 1,0;  $\text{MgSO}_4 \times 7 \text{H}_2\text{O}$  – 0,25; агар – 20,0; вода – 1 л. Інокулюм вносився в кількості 5 % (об'ємних) на 100 мл середовища.

Для глибинного культивування *G. lucidum* використовували попередньо підібрану концентрацію хлібної крихти 50 г на 1 л води [4]. Поживне середовище стерилізували в автоклаві 40 хв при 1 атм у колбах Ерленмеєра об'ємом 0,5 л. Культивування проводили на качалці при 120 об/хв за температури  $26 \pm 2$  °С. Параметри росту культури, рН культурального середовища й утворення метаболітів визначали в динаміці раз на три доби, до 21-ї доби. В контрольному середовищі на 3, 6 та 9-ту добу визначали концентрацію сухих і редуруючих речовин, органічних кислот, а також загальний вміст фенолів. Так як показники контрольного середовища коливалися в межах похибки вимірювання, до

21 доби визначення характеристик середовища не продовжували.

Біомасу відділяли від культуральної рідини шляхом фільтрації, її концентрацію визначали ваговим методом [5]. У культуральній рідині з'ясовували: рН потенціометричним методом, вміст сухих речовин ареометричним методом [6], екзополісахаридів – за методикою В.Г. Бабіцької [7], органічних кислот та фенолів – за описаними у [8] методиками.

Для визначення швидкості росту продуцента ( $X$ , г/л·добу) використовували формулу

$$X = \frac{M_n - M_{n-1}}{t_n - t_{n-1}},$$

де  $M_n$  та  $M_{n-1}$  – вихід біомаси продуцента (г/л) в моменти часу  $t_n$  і  $t_{n-1}$  відповідно.

Питому швидкість росту продуцента ( $\mu$ , доба<sup>-1</sup>), швидкість утворення полісахаридів ( $Y$ , г/л·добу), питому швидкість утворення полісахаридів ( $Z$ , доба<sup>-1</sup>), продуктивність процесу біосинтезу полісахаридів ( $\Pi$ , мг/г·добу) та швидкість споживання джерела вуглецю для синтезу полісахаридів ( $V$ , г/л·добу) визначали за такими формулами [9]:

$$\mu = \frac{\ln M_n - \ln M_{n-1}}{t_n - t_{n-1}}; Y = \frac{M'_n - M'_{n-1}}{t_n - t_{n-1}};$$

$$Z = \frac{M'_n - M'_{n-1}}{(M_n - M_{n-1})(t_n - t_{n-1})}; \Pi = \frac{M'_n}{M_n \Delta t};$$

$$V = \frac{C_{n-1} - C_n}{t_n - t_{n-1}},$$

де  $M_n$  та  $M_{n-1}$  – вихід біомаси продуцента (г/л) в моменти часу  $t_n$  і  $t_{n-1}$  відповідно;  $M'_n$  та  $M'_{n-1}$  – вихід екзополісахаридів (г/л) в моменти часу  $t_n$  і  $t_{n-1}$  відповідно;  $C_n$  та  $C_{n-1}$  – концентрації редуруючих речовин у моменти часу  $t_n$  та  $t_{n-1}$  відповідно;  $\Delta t$  – проміжок часу, за який вимірюється продуктивність (кількість діб культивування).

Ефективність біоконверсії субстрату ( $E$ , %) [10], питому ефективність біоконверсії субстрату ( $B$ , мг/г·добу), ступінь розмноження ( $n$ ) [11] та метаболічний коефіцієнт ( $q$ ) [11] розраховували за такими формулами:

$$E = \frac{M_n}{M_w} 100 \%; B = \frac{M_n}{M_w \cdot \Delta t};$$

$$n = 3,32 \frac{\log M_n}{\log M_0}; q = \frac{\mu}{E},$$

де  $M_n$  – абсолютно суха вага біомаси;  $M_w$  – абсолютно суха вага хлібної крихти;  $M_0$  – абсолютно суха вага інокулюма.

Повторність дослідів трикратна, результати експериментів оброблено методами математичної статистики з використанням Microsoft Excel.

### Результати та їх обговорення

Міцелій *G. lucidum* при глибинному культивуванні на хлібній крихті ріс у вигляді гладких агломератів різного розміру (0,3–3,0 мм під час стаціонарної фази). У [12] описано ріст вищих базидіоміцетів у глибинній культурі у вигляді міцеліальних агломератів, або “кульок”, гладких або пухнастих, шільних та з порожниною всередині, а також дисперсний ріст у вигляді окремих гіф. При цьому підкреслюється, що характер росту міцеліальної колонії одного виду може змінюватися залежно від умов культивування. У [13] показано, що при глибинному культивуванні *G. lucidum* на крохмалній крупці утворюються міцеліальні агломерати майже однакового розміру, а на нативній молочній сироватці агломерати різного розміру.

За результатами наших експериментів, ріст *G. lucidum* в умовах глибинного культивування в періодичному процесі підпорядковувався загальним закономірностям розвитку мікроорганізмів [11]. На кривій росту *G. lucidum* можна побачити диауксію (рис. 1) – сповільнення росту до досягнення максимальної біомаси. Такий перегин на кривій росту відповідає моменту, коли вичерпується одне джерело вуглецю та індукується нова ферментаційна система, що розкладає інше джерело вуглецю; це пов'язано із інгібуванням використання менш доступного джерела вуглецю за наявності більш доступного та репресією синтезу ферментів [11]. Подібні криві росту спостерігаються при розкладанні *G. lucidum* [14, 15] та іншими базидіоміцетами [16] складних субстратів.

Відомо, що ріст будь-якого гриба значною мірою визначається характером його взаємодії з навколишнім середовищем, важливе місце при цьому належить поглинанню компонентів поживного середовища та виділенню метаболітів. Крива, що відображає концентрацію редуруючих речовин у культуральній рідині гриба,

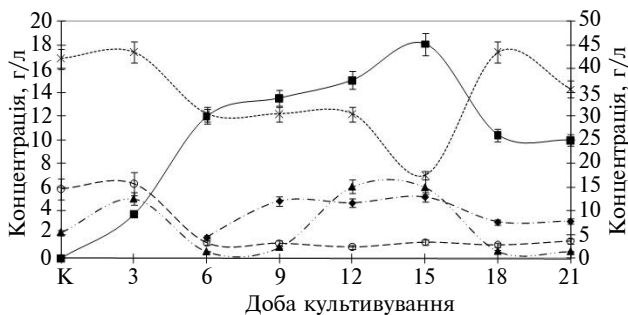


Рис. 1. Динаміка вмісту біомаси (г/л, а. с. в.), екзополісахаридів (г/л, а. с. в.), фенолів, редукуючих речовин і сухих речовин в процесі глибинного культивування *G. lucidum* 1900 на хлібній крихті; ліва вісь: —■— — біомаса; --▲-- — редукуючі речовини; права вісь: ···◆··· — екзополісахариди; ···×··· — сухі речовини; --○-- — феноли

Примітка. а. с. в. — абсолютно суха вага.

має два піки (див. рис. 1). Схожа динаміка спостерігалась під час глибинного культивування *G. lucidum* при використанні комплексного середовища, яке складалося із глюкози, пептону, бобової пудри та борошна кукурудзи [14]. В нашому дослідженні в середовищі з хлібною крихтою після автоклавування спостерігалася певна концентрація редукуючих речовин (контроль). До 6-ї доби гриб утилізував ці доступні джерела вуглецю для активного експотенційного росту. З 6-ї по 9-ту добу концентрації редукуючих речовин і біомаси залишалися майже незмінними, очевидно, що в цей період відбувалася перебудова ферментаційної системи *G. lucidum*. Із 9-ї по 12-ту добу збільшувалась кількість редукуючих речовин, імовірно, через розкладання менш доступних джерел вуглецю. Як більш доступні джерела вуглецю в хлібній крихті можуть виступати розчинні у воді вуглеводи (крохмаль і продукти його гідролізу; моносахариди — глюкоза, фруктоза, пентоза, арабіноза, ксилоза, галактоза; дисахариди — сахароза, мальтоза), а як менш доступні, можливо, нерозчинні у воді целюлоза, геміцелюлоза, пектини та пентозами, які входять до складу хліба [17]. Отже, такий подовжений термін глибинного культивування *G. lucidum* порівняно з даними у [13, 18–20] із досягненням максимальної кількості біомаси на 15-ту добу може бути пов'язаним із наявністю в субстраті як легкодоступних джерел вуглецю, так і тих, що розкладаються більш тривалий час [21].

Встановлено, що динаміка кількості сухих речовин поживного середовища корелювала із динамікою кількості утвореної біомаси *G. lu-*

*cidum* (див. рис. 1). Концентрація сухих речовин зменшувалась до накопичення грибом максимальної біомаси, подальші зміни були пов'язані із поступовим лізисом клітин гриба. У [22] автором також показано обернену залежність концентрації сухих речовин культуральної рідини від концентрації міцеліальної маси грибів.

Максимальна кількість міцеліальної маси при глибинному культивуванні на хлібній крихті становила  $18,1 \pm 0,2$  г/л на 15-ту добу. В літературних даних, як правило, при глибинному культивуванні на натуральних субстратах максимальна кількість біомаси *G. lucidum* є меншою, проте, досягається за коротший проміжок часу. Так, при глибинному культивуванні *G. lucidum* на крохмальній крупці максимальна біомаса 7,0 г/л була отримана на 9-ту добу культивування [13], на комплексному синтетичному середовищі з додаванням насіння соняшника та шроту насіння соняшника — 9,4 г/л та 9,0 г/л відповідно на 6-ту добу [19], на середовищі з борошном сої та соняшниковою олією — 11,0–11,4 г/л на 6-ту добу [20]. В той самий час більшу кількість біомаси було отримано при культивуванні *G. lucidum* на молочній (29,6 г/л на 5-ту добу) [13] та підсирній (20,1 г/л на 7-му добу) [18] сироватках.

Полісахариди — це важливі біологічно активні речовини *G. lucidum*. Вони не перетравлюються шлунково-кишковим трактом, а проходять транзитом, абсорбуючи важкі метали, вільні радикали й інші канцерогени [1]. Встановлено, що  $\beta$ -глюкани є фракцією екзополісахаридів *G. lucidum*, для якої показана висока біологічна активність [1].  $\beta$ -глюкани активізують як місцевий імунітет, забезпечуючи захист організму від вторгнень антигенів, так і системний, що веде до знищення чужорідного генетичного матеріалу, який вже проник, та відновленню імунного гомеостазу [23].

Нами було отримано максимальну концентрацію екзополісахаридів —  $5,2 \pm 0,3$  г/л на 15-ту добу при глибинному культивуванні *G. lucidum* на хлібній крихті. При культивуванні *G. lucidum* на крохмальній крупці на 15-ту добу також було отримано максимальну концентрацію екзополісахаридів (4,2 г/л) [13], на молочній сироватці — 10,0 г/л на 11-ту добу [13], на синтетичному середовищі з додаванням насіння соняшника — 3,1 г/л та з додаванням шроту насіння соняшника — 3,6 г/л на 5-ту добу [19], а на пивному суслі при культивуванні п'яти штамів *G. lucidum* — від 3,5 до 5,9 г/л [24] та від 3,0 до 8,0 г/л [25].

Встановлено, що базидіоміцети здатні розкладати широкий спектр субстратів, зокрема, фенольні речовини [21]. Загальний вміст фенолів культуральної рідини був найбільшим на початку експерименту, надалі ферментативна система *G. lucidum* розкладала фенольні компоненти середовища. В нашому дослідженні при глибинному культивуванні на хлібній крихті *G. lucidum* не помічено виділення фенолів у культуральне середовище.

Вміст органічних кислот у культуральному середовищі впливає на рН, що має велике значення для характеру метаболічних процесів [12] і має вплив на накопичення біомаси [26]. Максимальна концентрація органічних кислот (0,12 г/л) у культуральній рідині була зафіксована на 9-ту добу експерименту при мінімальному значенні рН – 3,2 (рис. 2). Подібна зміна рН у культуральному середовищі *G. lucidum* (спочатку зменшення, потім збільшення) була також отримана іншими авторами при глибинному культивуванні *G. lucidum* [26].

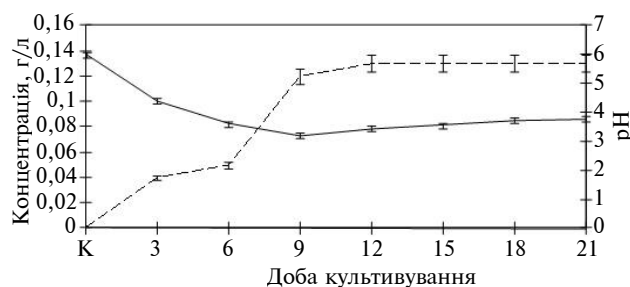


Рис. 2. Вміст органічних кислот і рН культуральної рідини в процесі глибинного культивування *G. lucidum* 1900 на хлібній крихті; ---- – органічні кислоти; ——— – рН

Для оцінки ефективності процесу культивування *G. lucidum* 1900 було проведено розрахунки кінетичних параметрів (таблиця).

Найбільша швидкість росту *G. lucidum* спостерігалась із 3-ї по 6-ту добу (2,76 г/л·добу) (див. таблицю). Середня швидкість росту *G. lucidum* до 6-ї доби (2,00 г/л·добу) відповідала літературним даним, отриманим при дослідженні динаміки накопичення біомаси, в якій була відсутня діауксія [13, 24, 25], проте, в подальшому накопичення біомаси продовжувалось повільнішими темпами до досягнення максимального значення на 15-ту добу. Схожа динаміка накопичення біомаси (два піки у швидкості росту *G. lucidum*) відзначалась авторами [14, 15], котрі отримали діауксію на кривій росту.

Питома швидкість росту, що характеризує приріст одиниці біомаси за одиницю часу, є

однією із найважливіших культуральних характеристик [11, 12]. За відомостями з [11, 12], максимальна питома швидкість росту спостерігається при культивуванні за відсутності ліміту по субстрату в період експотенційного росту. За даними розрахунків, при глибинному культивуванні *G. lucidum* на субстраті з хлібною крихтою на 6-ту добу спостерігається максимальна питома швидкість росту, а отже, гриб росте експотенційно. Відомо [12], що гриби ростуть експотенційно до тих пір, поки є простір для росту у формі міцеліальних кульок та достатня дифузія поживних речовин у колонію. Якщо концентрація біомаси перевищує 10–15 г/л сухого міцелію та виникає ліміт поживних речовин всередині кулеподібної колонії, а нарощення колонії відбувається тільки по її поверхні, то ріст у глибинній культурі відбувається за кубічним законом, що є окремим випадком експотенційного закону [12]. За результатами наших досліджень, після 6-ї доби, коли накопичується відповідна кількість біомаси, питома швидкість росту спадає, проте, міцеліальна маса продовжує накопичуватись до 15-ї доби.

Ступінь розмноження показує кількість подвоєнь біомаси від посівного міцелію до конкретного моменту [11]. Найбільший ступінь розмноження майже досягав 10-ти на 15-ту добу культивування при найбільшому значенні концентрації біомаси.

У [12, 13, 24, 25] показано, що швидкість і величина накопичення біомаси й екзополісахаридів залежать від багатьох факторів (штамова належність, склад субстрату, умови культивування тощо). В наших дослідженнях накопичення екзополісахаридів у культуральній рідині корелювало із накопиченням міцеліальної маси *G. lucidum*. Подібний характер накопичення біомаси й екзополісахаридів (на початку культивування концентрація біомаси й екзополісахаридів зростала, потім кількість екзополісахаридів залишалася більш-менш сталою, навіть при другому прискоренні накопичення біомаси, далі спостерігалось зменшення кількості екзополісахаридів і біомаси) було отримано також іншими авторами при глибинному культивуванні *G. lucidum* на комплексному середовищі, яке складалось із тростинного цукру, молока, олії насіння сафлору, дріжджового та мальцевого екстрактів і мінеральних солей [14]. Максимальна швидкість біосинтезу екзополісахаридів (1,02 г/л·добу) та питома швидкість утворення екзополісахаридів, або кількість грам екзополісахаридів, утворених одним грамом біомаси

Таблиця. Кінетичні параметри кількісної оцінки ефективності процесу культивування *G. lucidum* 1900

Параметри	Доба культивування					
	6	9	12	15	18	21
Швидкість росту продуцента, г/л·добу	2,76	0,52	0,51	1,02	–	–
Питома швидкість росту продуцента, за добу	0,404	0,041	0,035	0,062	–	–
Ступінь розмноження	9,22	9,40	9,55	9,82	9,02	8,96
Продуктивність біосинтезу екзополісахаридів, мг/г·добу	24,90	39,82	25,97	19,12	16,42	14,05
Питома ефективність біоконверсії, мг/г·добу	39,93	30,07	25,08	24,13	11,58	9,50
Ефективність біоконверсії субстрату, %	23,96	27,06	30,10	36,20	20,84	19,94
Метаболічний коефіцієнт	1,686	0,151	0,116	0,171	–	–

Примітка. “–” – приріст біомаси відсутній.

гриба за добу протягом періоду часу між двома вимірами (0,41/добу), спостерігались з 6-ї по 9-ту добу. Згідно із розрахунками показника продуктивності процесу біосинтезу полісахаридів, найефективніше накопичення екзополісахаридів *G. lucidum* відбувається до 9-ї доби культивування (див. таблицю). Найбільша швидкість споживання джерела вуглецю (3,72 г/л·добу) спостерігалась з 3-ї по 6-ту добу.

Ефективність біоконверсії субстрату (див. таблицю) коливалась у межах 20–36,20 % і досягла максимуму на 15-ту добу. Схожі показники ефективності біоконверсії субстрату (22–40 %) були встановлені у праці [10] при глибинному культивуванні базидіального гриба *Pleurotus tuber-regium*. Метаболічний коефіцієнт (питома швидкість метаболізму, або швидкість споживання субстрату культурою в цей момент часу) мав найбільші значення на 6-ту добу культивування (див. таблицю). У [12] виявлено, що на здатність перетворювати поживні речовини субстрату в міцелій значною мірою впливає присутність стимуляторів у поживному середовищі, в першу чергу вітаміну В<sub>1</sub>. Переважна більшість вищих базидіальних грибів не здатна синтезувати певні вітаміни групи В, найчастіше вітамін В<sub>1</sub> (тіамін), який впливає на синтез і використання вуглеводів [21]. Тому до поживних середовищ при культивуванні вищих базидіомицетів додають цей вітамін або його попередники [12, 14, 15, 21]. Відомо [17], що до складу борошна хліба, а отже, і до складу хлібної крихти, входить тіамін у кількості 0,17–0,42 мг на 100 г залежно від виду борошна.

Питома ефективність біоконверсії, або середня кількість міліграм біомаси, що утворюється із одного граму відходів від початку культивування, є індикатором ефективності культивування саме такої кількості діб для біоконверсії відходів у біомасу гриба. Найбільша питома ефективність біоконверсії спостерігалась на 6-ту добу культивування,

отже, саме до 6-ї доби хлібна крихта найбільш ефективно використовується для утворення біомаси гриба *G. lucidum* 1900.

### Висновки

Нами вперше одержано дані накопичення міцеліальної маси й утворення біологічно цінних метаболітів у культуральній рідині, які свідчать про перспективність і можливість використання відходу харчової промисловості України – хлібної крихти – для культивування лікарського гриба *G. lucidum*. Встановлено здатність *G. lucidum* 1600 до біосинтезу екзополісахаридів при глибинному культивуванні на субстраті з хлібної крихти.

Максимальну концентрацію біомаси *G. lucidum* 1600 у кількості  $18,10 \pm 0,2$  г/л було отримано на 15-ту добу культивування. Найбільшу швидкість (2,76 г/л за добу) та питому швидкість (0,404 за добу) росту продуцента було розраховано для періоду від 3-ї по 6-ту добу культивування.

Максимальну концентрацію екзополісахаридів –  $5,2 \pm 0,3$  г/л – було синтезовано грибом на 15-ту добу. Найбільшу швидкість (1,02 г/л за добу) та питому швидкість (0,41 за добу) утворення екзополісахаридів було розраховано для періоду з 6-ї по 9-ту добу.

Максимальну ефективність біоконверсії субстрату (36,20 %) розраховано для 15-ї доби. Найбільші питому ефективність біоконверсії субстрату (39,93 мг/г за добу) та коефіцієнт метаболізму (1,686) відзначено на 6-ту добу культивування *G. lucidum* 1600 на хлібній крихті.

У подальших дослідженнях планується оптимізувати поживне середовище на основі хлібної крихти для глибинного культивування *G. lucidum* з метою отримання максимальної кількості міцеліальної маси, а також проаналізувати вміст біологічно активних речовин та фізіологічно активну дію біомаси *G. lucidum* при культивуванні на хлібній крихті.

1. S.P. Wasser, A.L. Weis, "Medicinal Properties of Substances Occuring in Higher Basidiomycetes Mushrooms: Current Perspectives (Review)", *Int. Journal of Med. Mushrooms*, vol. 1, pp. 31–62, 1999.
2. Бухало А.С., Митропольська Н.Ю., Михайлова О.Б. Каталог колекції культур шапинкових грибів ІБК. – К.: Альтерпрес, 2011. – 100 с.
3. ДК 005-96. Класифікатор відходів. – Введ. 1996-10-01. – К.: Держспоживстандарт України, 2008. – 282 с.
4. Іванова Т.С., Антоненко Л.А., Мегалінська А.П. Культивування лікарських грибів на субстраті з хлібної крихти в якості основи для створення функціональних продуктів // Первая конф. молодых ученых (с международным участием) "Биология растений и биотехнология" (5–7 октября). – Белая Церковь, 2011. – С. 99.
5. Методи експериментальної мікології: Довідник / За ред. В.І. Білай. – К.: Наук. думка, 1982. – 550 с.
6. ДСТУ 6062:2008. Фрукти, овочі та продукти їх перероблення. Ареометричний метод визначення вмісту розчинних сухих речовин. – Введ. 2011-01-01. – К.: Держспоживстандарт України, 2010. – 18 с.
7. V.G. Babitskaya, V.V. Scherba, N.Y. Mitropolskaya, N.A. Bisko, "Exopolysaccharides of Some Medicinal Mushrooms Production and Composition", *Int. Journal of Med. Mushrooms*, vol. 2, no. 1, pp. 51–54, 2000.
8. Методы технологического и микробиологического контроля в виноделии / Под ред. Г.Г. Валуйко. – М.: Пищевая промышленность, 1980. – 144 с.
9. Юрлова Н.А., Копылова Г.В. Оптимизация питательной среды для биосинтеза экзополисахарида *Aurebasidium pullulans* (de Vary) Arnaoud K-371// Микология и фитопатология. – 1993. – 27, № 5. – С. 56–62.
10. J.-Zh. Wu, P.C.K. Cheung, K.-H. Wong, N.-L. Huang, "Studies on Submerged Fermentation of *Pleurotus tuber-regium* (Fr.) Singer – Part I: Physical and Chemical Factors Affecting the Rate of Mycelial Growth and Bioconversion Efficiency", *Food Chemistry*, no. 81, pp. 389–393, 2003.
11. Перт С.Дж. Основы культивирования микроорганизмов и клеток. – М.: Мир, 1978. – 332 с.
12. Бухало А.С. Высшие съедобные базидиомицеты в чистой культуре. – К.: Наук. думка, 1988. – 144 с.
13. Круподьорова Т.А. Біологічні особливості *Ganoderma applanatum* (Perst.:Wallr.) Pat. *G. lucidum* (Curtis:Fr.) P.Karst. в культурі: Автореф. дис. ... канд. біолог. наук: 03.00.21. – К., 2009. – 22 с.
14. P. Xu, Zh.-Y. Ding, Zh. Qian et. al., "Improved Production of Mycelial Biomass and Ganoderic Acid by Submerged Culture of *Ganoderma lucidum* SB97 Using Complex Media", *Enzyme and Microbial Technology*, vol. 42, pp. 325–331, 2008.
15. L. Papinutti, "Effects of Nutrients, pH and Water Potential on Exopolysaccharides Production by a Fungal Strain Belonging to *Ganoderma lucidum* Complex", *Bioresource Technology*, no. 101, pp. 1941–1946, 2010.
16. I.-L. Shih, B.-W. Chou, Ch.-Ch. Chen et. al., "Study of Mycelia Growth and Bioactive Polysaccharide Production in Batch and Fed-Batch Culture of *Grifola frondosa*", *Bioresource Technology*, vol. 99, pp. 785–793, 2008.
17. Дробот В.І. Технологія хлібопекарського виробництва. – К.: Логос, 2002. – 364 с.
18. H. Lee, M. Song, Y. Yu, S. Hwang, "Production of *Ganoderma lucidum* Mycelium Using Cheese Whey as an Alternative Substrate: Response Surface Analysis and Biokinetics", *Biochem. Eng. J.*, vol. 15, pp. 93–99, 2003.
19. N. Curvetto, R. Gonzalez-Matute, D. Figlas, S. Delmastro, "Sunflower Seed-Based Medium for Growth of *Ganoderma* spp.", in *Proc. of the Fourth Int. Conf. "Mushroom Biology and Mushroom Products"*, Cuernavaca, Mexico, 2002, pp. 205–211.
20. Гарибова Л.В. Антимонова А.В., Завьялова Л.А., Краснопольская Л.М. Рост и морфологические признаки мицелия трутовика лакированного *Ganoderma lucidum* в зависимости от условий культивирования // Микология и фитопатология. – 2003. – № 3. – С. 14–19.
21. Шиврина А.Н., Низковская О.П., Фалина Н.Н. и др. Биосинтетическая деятельность высших грибов – Л.: Наука, 1969. – 242 с.
22. Ключак И.Р. Оптимизация режимов получения посевного материала и технологические требования к биореактору для производства кормового белкового продукта: Автореф. дис. ... канд. техн. наук: 03.00.23. – Ялта, 1991. – 28 с.
23. Лукьянчук В.Д., Мищенко Е.М., Бабенко М.Н. Бета-глюканы как основа создания средств иммуномодулирующего действия // Укр. мед. часопис. – 2011. – № 5. – С. 92–93.
24. Смирнов Д.А. Углеводы глубинной культуры *Ganoderma lucidum*: образование, характеристика: Автореф. дис. ... канд. биолог. наук: 03.00.07. – Минск, 2007. – 24 с.
25. Щерба В.В., Осадчая О.В., Рожкова З.А. и др. Отбор грибов – продуцентов эндо- и экзополисахаридов // Матер. Междунар. конф. "Современное состояние и перспективы развития микробиологии и биотехнологии". – Минск. – 2002. – С. 196–197.
26. Q.-H. Fang, J.-J. Zhong, "Effect of Initial pH on Production of Ganoderic Acid and Polysaccharide by Submerged Fermentation of *Ganoderma lucidum*", *Process Biochem.*, vol. 37, pp. 769–774, 2002.