



(19) RU (11) 2 111 253 (13) С1  
(51) МПК<sup>6</sup> С 12 Р 21/00, С 12 Н 1/20,  
1/18, 9/24//(А 23 К 1/00)

РОССИЙСКОЕ АГЕНТСТВО  
ПО ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

(21), (22) Заявка: 96119112/13, 25.09.1996

(46) Дата публикации: 20.05.1998

(56) Ссылки: FR, патент, 2285080, кл. А 23 J 1/18, 1976. SU, авторское свидетельство, 1601115, кл. С 12 Н 1/16, 1990. DE, патент, 2548641, кл. А 23 К 1/14, 1978. RU, патент, 2041946, кл. С 12 Н 1/16, 1995.

(71) Заявитель:  
Государственный научно-исследовательский институт биосинтеза белковых веществ

(72) Изобретатель: Матвеев В.Е.,  
Вольфович Д.И., Захарычев А.П., Куликова  
В.П., Воробьева Г.И., Лупова Л.М., Долгая  
М.Б., Зюкова Л.А., Яшина В.Н., Гришина Е.М.

(73) Патентообладатель:  
Государственный научно-исследовательский институт биосинтеза белковых веществ

(54) СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ БИОМАССЫ

(57) Реферат:

Способ получения биомассы предусматривает выращивание бактерий или ассоциаций бактерий с амилолитическими дрожжами, в условиях аэрации на питательной среде, содержащей в качестве источника углерода муку и/или отходы переработки злаковых культур - отруби и др., подвергнутые предварительно ферментативной обработке с помощью комплексных ферментных препаратов Амилосубтилина ГЗХ и/или Глюкаваморина

ГХ. Способ позволяет при расходе ферментов от 0,25% до 1,0% от абсолютно сухого вещества сырья получать биомассу с содержанием белка до 50 - 60% и полным набором аминокислот, витаминов группы В (в том числе В12), Н, Е, F, а также микро- и макроэлементов. Возврат жидкой фазы (технологического конденсата) в процесс культивирования обеспечивает безотходную технологию, экономию воды и минеральных солей. З.з.п. ф.-лы.

R U  
2 1 1 2 5 3  
C 1

R U  
? 1 1 2 5 3  
C 1



(19) RU (11) 2 111 253 (13) C1  
(51) Int. Cl. 6 C 12 P 21/00, C 12 N 1/20,  
1/18, 9/24//(A 23 K 1/00)

RUSSIAN AGENCY  
FOR PATENTS AND TRADEMARKS

(12) ABSTRACT OF INVENTION

(21), (22) Application: 96119112/13, 25.09.1996

(46) Date of publication: 20.05.1998

(71) Applicant:  
Gosudarstvennyj nauchno-issledovatel'skij  
institut biosinteza belkovykh veshchestv

(72) Inventor: Matveev V.E.,  
Vol'fovich D.I., Zakharychev A.P., Kulikova  
V.P., Vorob'eva G.I., Lupova L.M., Dolgaja  
M.B., Zjukova L.A., Jashina V.N., Grishina E.M.

(73) Proprietor:  
Gosudarstvennyj nauchno-issledovatel'skij  
institut biosinteza belkovykh veshchestv

(54) METHOD OF PREPARING BIOMASS

(57) Abstract:

FIELD: microbiology. SUBSTANCE: claimed method comprises cultivating bacteria or associations of bacteria containing amylolytic yeast under aeration conditions of culture medium containing, as carbon source, flour and/or cereal waste bran subjected to enzymic treatment with use of complex enzymic agents such as amylosubtilin and/or glucavamorin. The consumption rate of enzymes is from 0.25 % to 1.0% of absolutely

dry matter. The claimed method affords one to obtain biomass with protein content of up to 50-60% and with full range of amino acids, vitamins B (including vitamin B12), H, E and F and also micro- and macroelements. Recycle of liquid phase (industrial condensate) to cultivation process affords waste-free technology, smaller amounts of water and mineral salts.  
EFFECT: more efficient preparation. 4 cl

R U  
2 1 1 1 2 5 3  
C 1

R U  
? 1 1 1 2 5 3  
C 1

RU 11253 C1

Изобретение относится к микробиологической промышленности, в частности к способам получения из отходов зернового и растительного сырья белковых продуктов, используемых для включения в рацион кормов сельскохозяйственных животных и птицы.

Белковые продукты могут быть получены на основе различных крахмал- и целлюлозосодержащих отходов, в частности на пшеничной соломе, картофельном крахмале, жмыхах сои, арахиса, рапса, на зерне хлебных злаков (муке, отрубях) и др. Известны способы получения кормовых белковых продуктов с использованием дрожжей, проводимых, например, на ферментолизате картофеля (патент Франции N 2285080, кл. A 23 J 1/18, 1976) и на ферментолизате кукурузы (Патент Франции N 2300806, С 12 D 13/06, 1976).

Предварительно сырье подвергают той или иной обработке - механической, термической, гидролизуют минеральными кислотами или ферментами. Предобработка сырья с помощью ферментативного гидролиза с использованием амилолитических и протеолитических ферментов имеет преимущество перед кислотным гидролизом, так как не требует специального оборудования из дорогих кислотоупорных материалов и создания давления для ускорения процесса гидролиза. Предобработанное сырье служит источником углеродного питания при выращивании на нем микроорганизмов. В результате сырье обогащается микробным белком. Для получения высокобелковых продуктов кормового назначения можно использовать различные виды микроорганизмов, способные расти на указанных субстратах - дрожжи, грибы, водоросли и бактерии. Последние являются наиболее перспективными продуцентами белка, так как способны накапливать в клетках на 10-15% белка больше, чем остальные микроорганизмы.

Известен способ получения белковых продуктов на основе размолотого зерна пшеницы, ячменя или кукурузы, а также отрубей пшеницы без предварительной гидролизной обработки при выращивании на них смеси штаммов дрожжей, включающей штамм, обладающий амилолитической активностью (авт. св. СССР N 1601115, кл. С 12 N 1/16, 1990). Однако этот способ длителен, неэкономичен и сопровождается сравнительно невысоким накоплением белка (максимально 28-36% к абсолютному сухому веществу).

Известен способ получения кормового белкового препарата, который включает предварительную предобработку ферментами крахмалсодержащего сырья на основе ржи, пшеницы, ячменя и картофеля (патент ФРГ N 2548641., А 23 J 1/14, опубл. 1978). Эта предобработка проводится в сочетании с кислотным гидролизом и предусматривает при выращивании дрожжей введение того или иного дополнительного источника углерода, например спиртов, что может привести к дополнительным затратам. Однако содержание белка в продукте и в этом случае недостаточно высокое и не превышает 44% от ABC.

Перечисленные способы получения кормового белкового препарата не

предусматривают повторное использование технологического конденсата, оставшегося после выделения целевого продукта, что обеспечивает безотходное производство и экономию расхода воды.

5 Известен способ получения биомассы на основе выращивания дрожжей в условиях аэрации на питательной среде, содержащей углеводороды в качестве источника углерода, а также минеральные соли макро- и микроэлементы, дальнейшего разделения суспензии дрожжей на сгущенную и осветленную фракции, нагрева сгущенной фракции, повторного его разделения на осветленную и сгущенную фракции, возврата охлажденной осветленной фракции на стадию выращивания и высушивания сгущенной фракции (авт. св. СССР N 646798, кл. С 12 N 1/28, 1975). Однако этот способ качается только процесса ферментации на субстрате, представляющем собой высокоочищенный жидкий парафин, который полностью ассимилируется дрожжами, и не может быть использован при ферментации такого сложного органического субстрата, как зерновые отходы, полностью не утилизируемые микроорганизмами и остающиеся в культуральной жидкости как в виде твердых включений, так и в растворенном виде.

10 Наиболее близким к предлагаемому является способ получения биомассы путем выращивания дрожжевых культур в условиях аэрации на питательной среде, содержащей отруби и/или муку злаковых культур, подвергнутых предварительно ферментативной обработке, а также минеральные соли и микроэлементы, с последующим выделением целевого продукта. Ферментативную обработку проводят амилолитическими или протеолитическими ферментами, взятыми в количестве 0,5-1,0% на ABC (абсолютно сухие вещества) сырья, при 50-70 °C, pH 7,0-7,4 в течение 1-1,5 ч., а выращивание дрожжей р. Candida осуществляют в условиях избытка ионов железа и фосфата (патент России N 2041946, кл. С 12 N 1/16, 1995).

15 В данном способе для ферментативной обработки отрубей и/или муки используют, в основном, индивидуальные амилолитические или протеолитические ферменты, такие как  $\alpha$ -амилаза, протеаза, а в качестве продуцента биомассы дрожжи Candida guilliermondii или Candida tropicalis.

20 В результате содержание белка в готовом продукте может достигать в оптимальных вариантах 46% на пшеничных отрубях и 50% на муке. Однако как указывают авторы способа, в среднем образце готового продукта на пшеничных отрубях концентрация белка значительно ниже и составляет всего 30% сырого протеина или 28% белка по Барнштейну.

25 Недостатком способа является пониженное содержание белка в получаемом продукте, что объясняется использованием дрожжей в качестве продуцентов белка, способных накапливать белка в клетках до 55-65% от ABC и уступающих в значительной степени в этом отношении бактериям. Кроме того, недостатком глубокая ферментативная предобработка субстрата за счет действия некомплексных ферментных препаратов не обеспечивает достаточным количеством

R U ? 1 1 1 1 1 C 1

R U

R U  
2 1 1 2 5 3 C 1

углеводных и других доступных для микроорганизмов соединений, что ограничивает из размножение и приводит к низкому содержанию белка в готовом продукте.

К недостаткам способа следует также отнести и отсутствие возврата в процессе выращивания оставшейся после выделения биомассы водной фазы, так называемого "технологического конденсата".

Задача, стоящая перед авторами настоящего способа, заключается в повышении содержания белка в целевом продукте и в увеличении экономичности производства.

Технический результат определяется повышение питательной ценности зерновых отходов отрубей и муки за счет обогащения их белком и получения высокобелковой биомассы, которую используют в качестве кормовой добавки для сельскохозяйственных животных и птицы.

Сущность способа заключается в следующем: из измельченного кархмалсодержащего сырья - отрубей и/или муки или их смеси в соотношении 1:1 готовят водную суспензию с модулем разбавления не менее Mp=1:8. Суспензию подвергают ферментативной обработке с помощью ферментных препаратов Амилосубтилина ГЗХ и/или Глюкаваморина ГХ, представляющих собой комплексы различных ферментов. Амилосубтилин ГЗХ содержит помимо основного фермента-  $\alpha$ -амилазы широкий набор ферментов, а именно глюкоамилазу, липазу, протеазу, целлюлозу, дезаминазу, амилазу, рибонуклеазу. Глюкаваморин ГХ состоит, в основном, из глюкоамилазы при достаточно высоком содержании  $\alpha$ -амилазы, глюкоизомеразы, КМЦ-азы, целлюлозы, протеазы и обеспечивает более полное, чем только  $\alpha$ -амилаза или протеаза, или Амилосубтилин разложение компонентов субстрата. В результате действия комплекса ферментов образуются доступные для основания микроорганизмами соединенияmono- и дисахара, аминосахара, декстрины, органические кислоты.

Для ферментолиза субстратов могут быть использованы как Амилосубтилин ГЗХ, так и Глюкаваморин ГХ. Однако применение Глюкаваморина ГХ или его смеси с Амилосубтилином ГЗХ экономичнее.

Ферменты добавляют в водную суспензию в количестве 0,25-1,0% на абсолютно сухой вес сырья, предпочтительнее 0,5%. При внесении ферментов в количестве 0,25% качество конечного продукта несколько снижается из-за уменьшения содержания белка на 2-3%, а при затрате 1% получают высокобелковый, но более дорогой продукт (на 3-5% белка больше, чем при 0,5%).

Ферментолиз проводят в течение 1-1,5 ч. при 50-70°C (предпочтительнее при 60°C), pH 5,0-7,4, в зависимости от используемого фермента: для Амилосубтилина ГЗХ pH 7,0-7,4, для Глюкаваморина ГХ pH 5,0-5,5 для смеси обоих ферментных препаратов pH 6,0-6,4.

В результате ферментолиза содержание допустимых для микроорганизмов углеводов (редуцирующих веществ - РВ) в суспензии увеличивается с 0,5% до 2,5% и выше в зависимости от используемого фермента. С

Глюкаваморином ГХ РВ примерно в два раза выше, чем РВ с Амилосубтилином ГЗХ. Увеличивается также и количество органических кислот с 0,1% до 0,5%, которые также хорошо потребляются для роста клеток.

Полученный ферментолизат затем охлаждают до 35-40°C и в него добавляют минеральные соли в количестве, г/л:

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  - 3,5 - 5,0 (в зависимости от содержания азота и калия в субстрате)

$\text{KH}_2\text{PO}_4$  - 0,1 - 0,5

$\text{MnSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  - 0,05

$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  - 0,008

$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  - 0,05

$\text{H}_3\text{BO}_3$  - 0,002

$\text{Na}_2\text{MoSO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$  - 0,005

Соли железа не добавляют в ферментолизат, так как сам субстрат содержит его в избытке.

Автоматически для поддержания pH на заданном уровне в процессе роста в ферментере вводят раствор аммиака, который одновременно является и источником азота.

Значение pH среды поддерживают на уровне 6,5 - 6,8, температуру на уровне 32 - 39°C (в зависимости от вида бактерий).

В качестве продуцентов белка и биомассы применяют штаммы бактерий, известные как продуценты белка на основе метанола и относящиеся к роду *Acetobacter*:

*Acetobacter methylicum* ВСБ-924 ЦМПМ В-2942 (патент РФ N 116363, С 12 N 15/00, 1984);

*Acetobacter methylicum* ВСБ-867 ЦМПМ В-1947 (патент РФ N 925112, С 12 N 15/00, 1982);

*Acetobacter methylovorans* ВСБ-914 ЦМПМ В-2479 (патент РФ N 1070916, С 12 N 15/00, 1983);

Все штаммы характеризуются высоким содержанием белка - до 76% к АСВ. Они очень близки по своим основным морфолого-физиологическим и биохимическим свойствам, являются факультативными ацидофильными метилотрофами, но кроме метанола используют в качестве источника углерода и другие соединения, в частности моно- и дисахара, органические кислоты и др. Штаммы различаются чувствительностью к типовым фагам и термоустойчивостью: оптимальный рост у *Acetobacter methylicum* ВСБ-867 при 28-30°C, у *Acetobacter methylicum* ВСБ-924 - 30-36°C и *Acetobacter methylovorans* ВСБ-914 при 36-40°C. При необходимости штаммы могут быть взаимозаменяемы.

В результате многочисленных экспериментов, проведенных авторами настоящего способа, удалось установить важное свойство у указанных выше штаммах, способность активно развиваться на углеводных субстратах и, в частности, на ферментолизате отрубей и/или муки не только при низких значениях pH, но при pH 6,5-6,8. При нестерильном культивировании в ферменте на ферментолизатах отрубей и/или муки в кислой среде при pH ниже 6,0 происходит, как показали опыты, быстрое инфицирование дрожжами и грибами и вытеснение продуцента из процесса на 30-40% и более от общего числа клеток. В результате в получаемом продукте в сильной степени снижается содержание белка.

RU 211253 C1 ? 11253

При повышении pH среды до 6,5-6,8 инфицированность дрожжами и грибами снижается до 5-10% и это дает возможность получить продукт высокого качества с достаточно высоким содержанием белка.

Авторами способа была проверена возможность использования в качестве продуцентов белка вместо бактерий штаммов дрожжей аналогичных штаммам прототипа. Выращивание дрожжей проводили на отрубях и смеси отрубей и муки, обработанных Амилосубтилином ГЗХ в соответствии с заявляемым способом, а также  $\alpha$ -амилазой по способу прототипа. При этом содержание РВ в ферментолизате по предлагаемому способу составляет 2,0, а по способу прототипа - 1,7. Содержание белка в конечном продукте был на 3% выше, чем по способу прототипа, но существенно ниже, чем при использовании в качестве продуцентов бактериальных штаммов.

Бактерии *Acetobacter methylicum* ВСБ-924, *Acetobacter methylicum* ВСБ-867 и *Acetobacter methylovorans* ВСБ-914 выращивают на ферментолизате как в чистой культуре, так и в смеси с дрожжами *Saccharomyces cerevisiae* ВКПМ У-1218 *Saccharomyces cerevisiae* ВКПМ У-446, обладающими амилолитической активностью. Дрожжи обеспечивают за счет собственных ферментов дополнительно к вводимым ферментным препаратам гидролиз крахмала субстрата, и как результат этого увеличивается содержание белка в конечном продукте.

Смесь бактерий и дрожжей готовят в соотношении 10:1 - 10:0,5 (100 клеток бактерий на 5-10 клеток дрожжей).

Для получения смешанной культуры бактерии и дрожжи предварительно выращивают раздельно обычными способами, предусмотренными для выращивания засевного материала, и затем вносят в питательную среду одновременно. При этом количество засеваемых дрожжей может варьировать в широких пределах, например, от 0,5 до 20% от общего числа клеток. В процессе совместного выращивания с бактериями при pH 6,5-6,8 содержание дрожжевых клеток независимо от засева будет находиться на одном и том же уровне, примерно 5-10% (т.е. 5-10 клеток на 100 клеток бактерий). Такая саморегуляция системы смешанной культуры обеспечивается, в основном, неблагоприятным для активного развития дрожжей значением pH.

За счет использования смешанной культуры бактерий и амилолитических дрожжей содержание белка в продукте повышается на 2-3% по сравнению с бактериями.

Выращивание бактерий или бактерий в смеси с амилолитическими дрожжами осуществляют в ферментере с аэрацией периодическим и/или непрерывным способами.

Периодическое культивирование продолжается в течение 8 ч. до почти полного потребления сахара, что контролируется количеством РВ в среде. (РВ должно быть ниже 0,05%). Затем биомассу выдерживают в ферментере в течение 2-3 ч. при аэрации (стадия "дозревания"). Во время этой стадии происходит утилизация не только остатка сахара, но и других углеродных компонентов

субстрата, в частности органических кислот, содержание которых в этот период снижается на 30-50%. В результате происходит подщелачивание среды до pH 7,0-7,5, что служит показателем завершенности процесса.

Продуцент в течение процесса не вытесняется посторонними микроорганизмами и в биоценозе ферментера составляет 95-98% от общего числа клеток.

По окончании процесса культивирования наросшая биомасса в виде суспензии вместе с остатками субстрата подвергается плазмолизу, выпарке до АВС 7,0-12% и распылительной сушке.

Жидкую фазу (технологический конденсат) после выпарки полностью направляют вновь на стадию выращивания и используют вместо воды для приготовления суспензии субстрата и ферментолизата. Это позволяет экономить 50-80% воды, затрачиваемой на выращивание и обеспечивает экологически чистый процесс.

#### Пример 2.

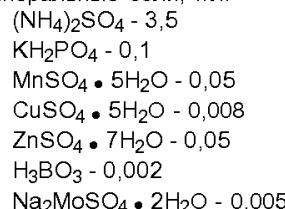
Выращивание бактерий *Acetobacter methylicum* ВСБ-924 осуществляют в ферментере с рабочим объемом 3,5 м<sup>3</sup> с аэрацией 1 м<sup>3</sup>/м<sup>3</sup>/мин.

В качестве субстрата используют смесь пшеничных и ржаных отрубей в соотношении 1: 1, (т. е. по 192,5 кг каждого вида), из которой готовят водную суспензию с модулем разбавления не менее Mp=1:8, т.е. 385 кг отрубей вносят в 3080 л воды. Содержание абсолютно сухих веществ в суспензии 11,1%.

Ферментолиз проводят в течение 1,5 ч. при 60°C и pH 6,7-6,8. В качестве ферmenta принимают Амилосубтилин ГЗХ в количестве 0,5% от АВС субстрата, т. е. 1,93 кг.

Полученный ферментолизат охлаждают до 40°C. Содержание редуцирующих веществ (РВ) в нем составляют 2,03%, органических кислот - 0,25%.

В готовый ферментолизат вносят минеральные соли, г/л:



Бактерии выращивают периодическим способом в течение 8 ч. Поддерживают температуру среды 32-35°C, pH 6,5-6,8. Для поддерживания pH на заданном уровне в процессе роста культуры вводят автоматически раствор аммиака (6%).

Процесс культивирования контролируют по содержанию углеводов. После потребления углеводов до РВ=0,02% культуру в ферментере выдерживают еще два часа при аэрации и перемешивании. В этот период ("дозирования") потребляют остатки углеводов и идет интенсивное использование органических кислот (их содержание снижает почти вдвое, до 0,12%). Уровень накопления белка за два часа "дозирования" поднимается на 3% и к концу процесса составляет 50,0% от АВС.

Полученная биомасса вместе с остатками субстрата подвергается плазмолизу, выпарке и распылительной сушке.

Готовый продукт помимо белка содержит витамины группы В (мг/кг):

RU 11253 C1

B<sub>1</sub> - 18,3

B<sub>2</sub> - 39,5

B<sub>3</sub> - 49,8

B<sub>5</sub> - 193,0

B<sub>6</sub> - 7,7

B<sub>c</sub> - 0,25

B<sub>12</sub> - 1,02,

а также витамины

H - 0,85

E - 90,7 и др.

Кроме того, продукт имеет широкий набор микро- и макроэлементов: Ca, K, Mg, Na, Fe, Zn, Mn, Cu, Co, Mo, В, аминокислот (сумма аминокислот 37% от ABC) и в их числе такие, как триптофан, лизин, метионин, цистин, аспаргиновая кислота и др.

Пример 2.

Выращивают бактерии *Acetobacter methylicum* ВСБ-924 по тому же режиму, что в примере 1.

Ферментолизат готовят тем же способом, что и в примере 1, но в качестве субстрата используют (385 кг) пшеничную муку вместо отрубей.

Полученный ферментолизат содержит РВ=4,8%.

Качество конечного продукта как в примере 1.

Содержание сырого протеина 60% от ABC.

Пример 3.

Выращивают бактерии *Acetobacter methylicum* ВСБ-867 по тому же режиму, что и в примере 1, но при 28-30°C.

Ферментолизат готовят тем же способом, что в примере 1, но в качестве субстрата используют смесь ржаных отрубей и пшеничной муки в соотношении 1:1 (т.е. по 192,5 кг каждого вида).

Полученный ферментолизат содержит РВ=3,6%.

Качество конечного продукта, как и в примере 1.

Содержание сырого протеина 54% от ABC.

Пример 4.

Выращивают бактерии *Acetobacter methylicum* ВСБ-924 по тому же режиму, что в примере 1.

Ферментолизат готовят тем же способом, что в примере 1, но вносят фермент Глюкаваморина ГХ в количестве 0,5% от ABC.

Полученный ферментолизат содержит РВ=4,54%.

Качество конечного продукта как и в примере 1.

Содержание сырого протеина 56% от ABC.

Пример 5.

Выращивают бактерии *Acetobacter methylovorans* ВСБ-914 по тому же режиму, что и в примере 1, но при 36-38°C.

Ферментолизат готовят тем же способом, что и в примере 1, но вносят смесь ферментов Амилосубтилина ГЗХ и Глюкаваморина ГХ в соотношении 1:1 (по 0,25% каждого от ABC субстрата, т.е. по 0,96 кг).

Полученный ферментолизат содержит РВ=3,56%.

Качество конечного продукта, как и в примере 1.

Содержание сырого протеина 53,5%.

Пример 6.

Выращивают бактерии *Acetobacter methylicum* ВСБ-924 по тому же режиму, что и в примере 1.

Ферментолизат готовят тем же способом, что и в примере 1, но вносят смесь ферментов Амилосубтилина ГЗХ и Глюкаваморина ГХ в соотношении 3:1 (0,375% Амилосубтилина ГЗХ и 0,125% Глюкаваморина ГХ от ABC субстрата, т.е. 1,44 кг и 0,48 кг соответственно).

Полученный ферментолизат содержит РВ=3,06%.

Качество конечного продукта, как и в примере 1.

Содержание сырого протеина 51,0%.

Пример 7.

Выращивают бактерии *Acetobacter methylicum* ВСБ-924 в смеси с амилолитическими дрожжами *Saccharomyces cerevisiae* ВКПМ У-1218 по тому же режиму, что в примере 1. Дрожжи вносят в засевной материал в количестве 10% от общего числа в инокуляте (90% бактериальных клеток и 10% клеток дрожжей).

Ферментолизат готовят тем же способом, что и в примере 1. Полученный ферментолизат содержит РВ=2,10%.

В конце выращивания соотношение числа клеток бактерий и дрожжей практически не меняется и сохраняется на уровне засевной культуры.

Качество конечного продукта, близкое к примеру 1, но немного ниже количество витамина Н. Содержание сырого протеина 52%.

Пример 8.

Ферментолизат готовят тем же способом, что и в примере 1.

Выращивают бактерии *Acetobacter methylicum* ВСБ-924 в тех же условиях, что и в примере 1, но не в периодическом, а в непрерывном режиме при скорости разбавления 0,2 ч<sup>-1</sup> при начальной концентрации в среде РВ до 2,0%, ACB = 8,0-10%.

Содержание сырого протеина 48-50%

Средний образец готового продукта, полученный при непрерывном режиме выращивания при скорости разбавления от 0,12 до 0,2 ч<sup>-1</sup> имеет следующую характеристику:

Содержание компонентов в % от ABC:

Сырой протеин - 48,5

Липиды - 2,5

Нуклеиновые кислоты - 5,6

Углеводы - 12,5

Сумма аминокислот - 37,2

(в том числе триптофан - 1,0; лизин - 2,1; метионин + цистин- 1,3 и др.).

Кроме того, в образце содержатся витамины группы В, D, A, E, Н, набор микро- и макроэлементов.

Тяжелые металлы Hg, Pb, Cd отсутствуют.

Пример 9.

После выращивания и "дозирования биомассы", полученной по режиму примера 1 или по режиму примера 8, ее отделяют от культуральной жидкости в процессе выпарки. Отделенную жидкую фазу (технологический конденсат) полностью возвращают для приготовления ферментолизата.

Ферментолизат готовят на смеси воды и технологического конденсата (в соотношении 1: 1) тем же способом, что и в примере 1, но минеральные соли вносят в меньшем количестве, чем в примере 1, т.е.

$(NH_4)_2SO_4$  - 2,0

$KH_2PO_4$  - 0,05

RU 2 1 1 1 2 5 3 C 1

MnSO<sub>4</sub> • 5H<sub>2</sub>O - 0,03

CuSO<sub>4</sub> • 5H<sub>2</sub>O - 0,004

ZnSO<sub>4</sub> • 7H<sub>2</sub>O - 0,03

H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> - 0,001

Na<sub>2</sub>MoSO<sub>4</sub> • 2H<sub>2</sub>O - 0,003

Выращивают бактерии Acetobacter methylicum ВСБ-924 в тех же условиях, что и в примере 1. Содержание сырого протеина 51,0%.

Таким образом, предлагаемый способ позволяет за счет предобратки отходов зернопроизводства - отрубей и/или муки и т.п. ферментными препаратами, содержащими в комплексе набора специфических индивидуальных ферментов, позволяющих максимально разрушать углеродсодержащее сырье и получить ферментолизат с доступными для усвоения микроорганизмами элементами питания. При этом значительно возрастает уровень редуцирующих веществ до 4,8-5,0 от АВС.

Выращивание высокобелковых бактериальных штаммов на богатых углеводами и другими легкоусвояемыми моно- и дисоединениями дает возможность получать конечный продукт с высоким содержанием белка - 50-60% в (зависимости от вида субстрата) и широким набором витаминов группы В, Н, Е, D и др., микро- и макроэлементов.

Возврат технологического конденсата на производственную линию позволяет экономить воду, сокращает выбросы в окружающую среду и уменьшает подачу минеральных солей в культуральную среду.

#### Формула изобретения:

- Способ получения биомассы,

включающий выращивание микроорганизмов - продуцентов белка в условиях аэрации на питательной среде, содержащей в качестве источника углерода отруби и/или муку злаковых культур, подвергнутые обработке ферментами при 50 -70 °C в течение 1,0 - 1,5 ч с добавлением микроэлементов, минеральных солей и воды с последующим выделением целевого продукта, отличающийся тем, что в качестве микроорганизмов используют штаммы метилотрофных бактерий или их ассоциации со штаммами дрожжей, обладающими амилолитической активностью.

2. Способ по п. 1, отличающийся тем, что в качестве микроорганизмов - продуцентов белка используют штаммы бактерий Acetobacter methylicum ЦМПМ В-2942, или Acetobacter methylicum ЦМПМ В-1947, или Acetobacter methylovorans ЦМПМ В-2479 в отдельности, или в смеси со штаммами дрожжей, обладающими амилолитической активностью, Saccharomyces cerevisiae ВКПМ У-1218 или Saccharomyces cerevisiae ВКПМ У-446.

3. Способ по п.1, отличающийся тем, что в качестве ферментов применяют взятые в количестве 0,25 - 1,0% на абсолютно сухой вес сырья комплексные ферментные препараты Амилосубтилин ГЗХ при pH 6,5 - 7,4, или Глюкаваморин ГХ при pH 5,0 - 5,5, или их смесь в соотношении 1 : 1 - 3 : 1 соответственно при pH 5,0 - 7,4.

4. Способ по п.1, отличающийся тем, что жидкую фазу, оставшуюся после выделения целевого продукта, возвращают в процесс выращивания.

35

40

45

50

55

60