

МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ
РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР ПИТАНИЯ, БИОТЕХНОЛОГИИ И
БЕЗОПАСНОСТИ ПИЩИ

На правах рукописи

Соловьев Александр Олегович

**РАЗРАБОТКА РЕСУРСОСБЕРЕГАЮЩЕЙ БИОТЕХНОЛОГИИ
ПРОТЕИНОВЫХ КОРМОПРОДУКТОВ НА ОСНОВЕ
ВТОРИЧНЫХ СЫРЬЕВЫХ РЕСУРСОВ ЗЕРНОПЕРЕРАБАТЫВАЮЩИХ
ПРОИЗВОДСТВ И ТОПИНАМБУРА**

4.3.5 Биотехнология продуктов питания и биологически активных веществ

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание ученой степени
кандидата технических наук

Научный руководитель:
директор ВНИИПБТ-филиала
ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии»,
доктор технических наук
Абрамова И.М.

Москва – 2024

ОГЛАВЛЕНИЕ

ВВЕДЕНИЕ.....	4
ГЛАВА 1 ОБЗОР НАУЧНО-ТЕХНИЧЕСКОЙ ЛИТЕРАТУРЫ.....	10
1.1 Развитие применения микробной биомассы, как альтернативного источника белка.....	10
1.2 Особенности применения микробного белка	14
1.3 Анализ современного рынка кормовой продукции РФ	18
1.4 Химический состав кормов.....	29
1.5 Сырье и микроорганизмы-продуценты для получения протеиновых кормовых продуктов	31
1.6 Биотехнология производства клеточного белка	39
1.7 Выводы по главе 1.....	53
ГЛАВА 2 Исследования культивирования дрожжей-продуцентов кормового белка	56
2.1 Объекты исследований.....	56
2.2 Методы исследований	60
2.3 Исследование характеристик сырья.....	64
2.4 Разработка состава питательной среды и определение рационального режима водно-тепловой и ферментативной обработки для ее получения.....	67
2.5 Выбор микроорганизмов-продуцентов кормового белка.....	71
2.6 Исследование по оптимизации минерального питания.....	75
2.7 Исследование качественного состава образцов протеинового кормопродукта.....	81
2.8 Выводы по главе 2.....	89
ГЛАВА 3 Разработка ресурсосберегающей технологии получения протеиновых кормовых продуктов	91
3.1 Разработка принципиальной схемы получения протеиновых кормопродуктов.....	91

3.2	Разработка режимов и параметров основных технологических процессов.....	93
3.3	Расчет основных материально-продуктовых потоков	105
3.4	Разработка аппаратурно-технологической схемы получения протеиновых кормопродуктов	112
3.5	Расчет техноэкономических показателей производства протеиновых кормопродуктов.....	119
3.6	Выводы по главе 3.....	123
	ЗАКЛЮЧЕНИЕ	124
	СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ	126
	ПРИЛОЖЕНИЯ.....	145

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность темы исследования. В современных условиях рынка комплексная переработка продовольственного сырья – одно из важнейших направлений развития агропромышленного комплекса Российской Федерации. Ключевым вопросом в реализации полного цикла переработки углеводсодержащего сырья является использование вторичных сырьевых ресурсов (ВСР), образующихся в ходе производственного процесса, с дальнейшим получением дополнительной товарной продукции. Наиболее актуально решение этой задачи для крупных предприятий по глубокой переработке зернового сырья в клейковину, нативный или модифицированный крахмалы, глюкозо-фруктозные сиропы, аминокислоты, этиловый спирт и другие продукты с высокой добавленной стоимостью. Реализация ВСР в натуральном виде весьма ограничена, а утилизация затратна. Поэтому наиболее рациональной является разработка технологий для их переработки в продукцию, которая востребована на рынке.

В ходе поиска доступного источника углеводов установлена перспектива использования клубней топинамбура. Технологическая база его переработки ограничена и не позволяет реализовать весь его потенциал, в то время как данный вид сырья представляет большой интерес благодаря своему химическому составу.

В рамках реализации программы по развитию сельского хозяйства активно стимулируется развитие животноводства. Данная отрасль зависима от высококачественных кормовых добавок, дефицит которых ранее восполнялся за счет импортной продукции, типа соевых шротов и подсолнечного жмыха. Текущая экономическая ситуация не позволяет восполнять дефицит белковых кормовых добавок в полном объеме из-за их возросшей стоимости, усложнившейся логистики. Восполнение такого дефицита за счет производственных мощностей, которые не зависимы от импорта – невозможно. Это связано с отсутствием промышленной базы получения белковых кормовых продуктов высокого качества.

В связи с изложенным выше остро стоит вопрос разработки технологии по биоконверсии ВСР предприятий по глубокой переработке углеводсодержащего сырья

с получением высококачественной белковой кормовой продукции. Разработка подобной технологии позволит рационально использовать ВСР, будет способствовать устранению имеющегося дефицита протеиновых кормопродуктов, создаст дополнительные рабочие места и увеличит рентабельность основного производства.

Степень разработанности темы. Значительный научно-практический вклад в разработку современных биотехнологических производств отраслей АПК внесли отечественные и зарубежные ученые: Абрамова И. М., Волкова Г. С., Воробьева Г. И., Климовский Д. И., Коновалов С. А., Кононенко В. В., Леденев В. П., Лукин Н. Д., Оганесянц Л. А., Поляков В. А., Римарева Л. В., Сербя Е. М., Томмэ М. Ф., Туршатов М. В., Фертман Г. И., Щербина Г. П., Яровенко В. Л., Voze H., Galzy P., Moulin G. и др. Однако результаты исследований, посвященных биоконверсии ВСР, таких как: фракция крахмала Б, пентозаны, отруби, а также клубней топинамбура в протеиновые кормопродукты практически отсутствуют, что сдерживает потенциал их промышленного применения.

Цель исследования - разработка ресурсосберегающей технологии протеиновых кормопродуктов путем микробной биоконверсии углеводсодержащих ВСР и клубней топинамбура.

Задачи исследования:

- обобщить и систематизировать теоретические и практические данные микробного биосинтеза при получении протеиновых кормопродуктов с высокой кормовой ценностью;
- исследовать химический состав ВСР глубокой переработки зерна и клубней топинамбура для оценки возможности их применения в технологии получения протеиновых кормопродуктов;
- разработать и научно обосновать рациональные режимы водно-тепловой и ферментативной обработки сырья для приготовления питательных сред;
- разработать рациональный состав питательных сред на основе ВСР глубокой переработки зерна и клубней топинамбура для проведения на них эффективного процесса культивирования микроорганизмов-продуцентов кормового белка;
- обосновать применение наиболее перспективных штаммов-продуцентов

кормового белка;

- определить химический состав, кормовую и энергетическую ценность полученного протеинового кормопродукта;

- разработать аппаратурно-технологическую схему предложенной технологии и оценить экономический эффект от ее реализации.

Научная новизна.

- изучен химический состав протеиновых кормопродуктов на питательных средах из ВСП и клубней топинамбура;

- впервые получены научно обоснованные данные по подбору рационального состава питательной среды на основе ВСП глубокой переработки зерна и клубней топинамбура, обеспечивающего эффективную биоконверсию углеводов сырья в протеиновые кормопродукты;

- изучено и выявлено рациональное соотношение компонентов мультиэнзимного комплекса, обеспечивающее эффективную экстракцию и гидролиз полисахаридов сырья;

- получены новые экспериментальные данные о биоконверсии углеводов ВСП и клубней топинамбура в кормовой белок дрожжеподобных микроорганизмов *Saccharomyces cerevisiae* RCAM 01137 и Y-3585, *Rhodospiridium diobovatum* Rh. d-1 RCAM 01131, *Candida tropicalis* CK-4;

- впервые выявлены закономерности влияния углеводно-минерального состава питательной среды на эффективность микробного синтеза белковых веществ и качество получаемой целевой продукции при переработке ВСП и клубней топинамбура.

Теоретическая и практическая ценность. Результаты установленных закономерностей процессов биоконверсии ВСП глубокой переработки зерна и клубней топинамбура использованы для разработки ресурсосберегающей биотехнологии протеиновых кормопродуктов с высокой кормовой ценностью. При этом:

- разработаны режимы водно-тепловой и ферментативной обработки сырья, определены состав питательной среды и условия культивирования

микроорганизмов-продуцентов кормового белка;

- разработан комплект нормативно-технической документации: ТУ 9290-001-77884989-2018 «Дрожжи кормовые «Аннинские»; ПТР 10-194-18 «Постоянный технологический регламент производства дрожжей кормовых "Аннинские" из крахмалосодержащего сырья»;

- проведены опытно-промышленные испытания разработанной технологии с наработкой опытной партии протеинового кормового продукта в количестве 200 тонн.

Созданная технология внедрена на предприятии ООО «Этилацетат» и позволяет получать кормовые дрожжи с содержанием протеина до 47 % на абсолютно сухое вещество (а.с.в.).

Методология и методы исследования. В основе организации и проведения исследований лежат работы отечественных и зарубежных ученых. Методологическую основу диссертации составляют законы классического научного познания, современные методы исследования. Для определения состава и характеристик ВСП, клубней топинамбура и протеиновых кормопродуктов использовались стандартные физико-химические методы оценки качества. Математическая обработка результатов исследования производилась с применением компьютерных программ Statistica 10 и Microsoft Excel.

Основные положения диссертации, выносимы на защиту:

- обоснование состава питательной среды на основе ВСП, содержащего фракции крахмала Б и пентозанов в соотношении 1 : 4;
- режимы водно-тепловой и ферментативной обработки сырья для создания питательной среды со сбалансированным химическим составом;
- данные по химическому составу питательных сред, приготовленных на основе ВСП и измельченных клубней топинамбура;
- новые экспериментальные данные по культивированию микроорганизмов-продуцентов кормового белка и химическому составу получаемой кормопродукции;
- технология промышленной переработки ВСП и измельченных клубней топинамбура в протеиновые кормопродукты, их химический состав, кормовая и

энергетическая ценность.

Соответствие диссертации паспорту научной специальности.

Диссертационная работа соответствует пунктам: 15, 16, 29 паспорта специальности 4.3.5. «Биотехнология продуктов питания и биологически активных веществ».

Степень достоверности результатов подтверждается использованием современных физико-химических, биохимических, микробиологических методов анализа, актом опытно-промышленных испытаний разработанной технологии на ООО «Этилацетат» по культивированию *R. diobovatum Rh. d-1 RCAM 01131* на ВСП глубокой переработки зерна с получением целевой продукции. Теоретические и практические аспекты научного направления подтверждены результатами экспериментальных исследований, проведенных в лабораторных и промышленных условиях, их достоверность подтверждена статистическими и сравнительными данными. Статистическую значимость различий определяли методом однофакторного дисперсионного анализа с апостериорным критерием Тьюки при $p < 0,05$ с использованием программы Statistica 10.

Личный вклад соискателя заключается в анализе литературы, определении цели и задач исследований, проведении экспериментов, разработке комплектов научно-технической документации, аргументировании выводов, формулировании и обосновании основных научных положений, выносимых на защиту, подготовке научных публикаций и представлении их в виде научных докладов.

Апробация результатов. Основные положения и результаты работы доложены на: Международном научно-практическом семинаре «Перспективные технологии и методы контроля в производстве спиртных напитков» (Москва, 2021 г.), XI Международном научно-практическом симпозиуме «Перспективные ферментные препараты и биотехнологические процессы в технологиях пищевых продуктов и кормов» (Москва, 2023 г.), IV Конгрессе «Наука, питание и здоровье» (Минск, 2023 г.), XVIII Всероссийском конгрессе с международным участием «Нутрициология и диетология для здоровьесбережения населения России» (Москва, 2023 г.), IV Международная научно-практическая конференция «Инновационные процессы в пищевых технологиях: наука и практика» посвященная 95-летию ордена Трудового

Красного Знамени Всероссийского научно-исследовательского института зерна и продуктов его переработки (Москва, 2024 г.) и др. Разработанная технология апробирована и внедрена на ООО «Этилацетат».

Публикации. По материалам работы опубликованы 30 научных статей и тезисов, в том числе 6 статей в изданиях, индексируемых международными базами данных, 7 статей в журналах рекомендуемых ВАК, 9 докладов на всероссийских и международных конференциях.

Структура и объем работы. Диссертация состоит из введения, обзора литературы, экспериментальной части, заключения, списка использованной литературы и приложений. Основное содержание работы изложено на 160 страницах машинописного текста, содержит 21 рисунок и 25 таблиц. Библиография включает 191 наименование, из них 97 иностранных.

Связь работы с научными программами. Работа выполнялась в рамках государственного задания Тема № 0529-2019-0066 «Разработка безотходной технологии переработки зернового сырья на спирт, пищевую и кормовую продукцию. Оценка ее пищевой ценности и безопасности», гранта Российского научного фонда № 22-16-00159, <https://rscf.ru/project/22-16-00159/>

Благодарности

Автор выражает благодарность научному руководителю, директору ВНИИПБТ – филиала ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии», д.т.н. – Абрамовой И. М., главному научному сотруднику отдела биотехнологии ферментов, д.т.н., академику РАН - Римаревой Л. В., заместителю директора по научной работе ВНИИПБТ – филиала ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии», д.т.н. член-корр. РАН – Сербе Е. М., заведующему отделом технологии спирта и комплексной переработки сырья ВНИИПБТ, к.т.н. – Туршатову М. В. и сотрудникам отдела к.т.н. Леденеву В. П., к.т.н. Кононенко В. В., Лозанской Т. И., заведующей лаборатории хроматографии ВНИИПБТ, д.т.н. – Шелеховой Н. В. за оказанную практическую и консультативную помощь.

ГЛАВА 1 ОБЗОР НАУЧНО-ТЕХНИЧЕСКОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1.1 Развитие применения микробной биомассы, как альтернативного источника белка

Клеточный белок - термин, введенный в 1960-х годах для характеристики продуктов, полученных из микробной биомассы [118]. Технология производства клеточного белка была разработана как перспективный способ решить проблему острого дефицита белка во всем мире. Данные технологии развивались как процессы биоконверсии дешевых ресурсов, часто отходов тех или иных производств, в продукты с добавленной питательной и рыночной стоимостью. Интенсивные исследования процессов ферментации и производства биомассы [130], а также дефицит кормовой продукции способствовали развитию индустрии производства клеточного белка. Активное развитие сельского хозяйства во второй половине 20-го века привело к большей доступности растительных источников сырья, таких как соя, кукуруза, пшеница и рис. Высокобелковистая сельскохозяйственная продукция имела преимущество перед клеточным белком в виде более низкой стоимости, однако развитие технологий пищевой промышленности образовало новое поколение продуктов на основе клеточного белка, которые можно использовать в качестве заменителей мяса. Будущее применение гетерологичной экспрессии белка может дополнительно развивать потенциал пищевой технологии, что приведет к получению продуктов, которые отвечают конкретным диетическим требованиям [101, 161].

Исследования, проведенные Дельбромом и его коллегами в Институте Дрожжевой промышленности в Берлине, впервые подчеркнули ценность биомассы пивных дрожжей и возможность их применения в качестве кормовой добавки для животных [118]. Эти исследования оказались полезными во время Первой мировой войны, когда Германии удалось заменить половину импортируемых источников белка дрожжевой биомассой. Поскольку не было возможности получать пивные дрожжи в достаточном количестве для удовлетворения потребностей в белке, большая доля биомассы дрожжей была целенаправленно культивирована в среде, которая содержала аммониевые соли в качестве источника азота [130].

В 1913 году Хейдуком в Германии, а затем в 1919 году Саком в Дании был исследован процесс инкрементного питания, где сахарный раствор постепенно подавали в аэрируемую суспензию дрожжей [130, 161]. Данный процесс до сих пор успешно используется при ферментации.

После окончания Первой мировой войны интерес к кормовым дрожжам в Германии снизился, но вновь начал расти, когда пивные и другие виды культивируемых дрожжей, стали массово применять для восполнения рационов питания людей и кормления животных. К тому времени преимущества аэробного производства дрожжей в сусле с высокой концентрацией были доказаны и позволяли достигать высокой скорости производства в крупных промышленных установках [101]. Примерно в это же время питательная ценность дрожжей стала предметом активных исследований, по результатам которых были опубликованы несколько важных работ, освещающих основы микробного биосинтеза [163, 185]. К началу Второй мировой войны дрожжи были включены сначала в армейские диеты, а затем и в гражданские. Имелись амбициозные планы по производству более 100 000 тонн дрожжей в год, однако суммарный объем производства в этот период не превышал 15 000 тонн в год.

Интерес к кормовым дрожжам, возникший в Германии в межвоенные годы, стал проявляться и в других частях мира. В рамках более масштабной программы по использованию природных источников сырья, Лабораторией лесных товаров Министерства сельского хозяйства Соединенных Штатов Америки была разработана технология по культивированию дрожжей на сульфитных отходах, с использованием штамма *Candida utilis*. Постоянно увеличивалось производство кормовых дрожжей и в западных штатах США [129, 149]. Послевоенный период характеризовался необходимостью решать проблемы человечества в глобальном масштабе. Для решения этой задачи под эгидой ООН появился ряд международных организаций. Одной из них стала Продовольственная и сельскохозяйственная организация (*Food and Agriculture Organization*) ООН (ФАО ООН), которая обозначила проблему голода и недоедания населения мира в 1960 году, введя концепцию белкового дефицита. Согласно данной концепции у 25 % населения мира

наблюдался дефицит потребления белка в их рационе. Прогнозы роста населения показывали, что число жителей удвоится в период с 1960 по 2000 год - с 2,5 до 5 миллиардов (фактическая цифра достигла 6 миллиардов), а большая часть прироста населения произошла в странах, страдающих от недоедания. Мальтузианская модель экономики прогнозировала, что сельскохозяйственное производство не сможет удовлетворить растущие потребности человечества в продовольствии. Началось более активное участие частных компаний в разработке процессов и получения продуктов ферментации. К началу 60-х годов несколько многонациональных компаний решили рассмотреть возможность производства микробной биомассы в качестве источника кормового белка. Были установлены основные кинетические механизмы, определяющие рост грибов и микроорганизмов [141, 142, 152]. Тем не менее, важные технические проблемы микробиологических производств еще предстояло решить, что подогревало интерес к данным видам исследований.

Для новых видов продукции проводилась политика сдерживания цен, что устанавливало сравнительно низкую рыночную стоимость товара. В целях поддержания коммерческих процессов были выбраны побочные продукты производств, такие как сыворотка, меласса, крахмал, этанол и метанол, углеводородные субстраты и отработанный сульфитный раствор. Новизна использования отходов производств добавила новый экономический стимул для производства клеточного белка, поскольку идея субстратов с около нулевой стоимостью или даже получение дополнительных доходов через концепцию бережного обращения с отходами были аргументированы и благоприятны для снижения стоимостных издержек производства. Таким образом, преимущества производства клеточного белка были максимально аргументированы.

К середине 60-х годов в разных частях мира суммарно производилось около 250 миллионов тонн дрожжевого белка. Только Советский Союз к 1970 году ежегодно планировал производство 900 000 тонн продовольственных и кормовых дрожжей для компенсации дефицита белка [104]. К 1980 году в развитых странах было налажено индустриальное производство клеточного белка и осуществлялись планы по расширению его производства в слаборазвитых странах, а дальнейшее

развитие растениеводства и агрокультуры в глобальном масштабе позволили наращивать объем выпуска сельскохозяйственной продукции (Рисунок 1)

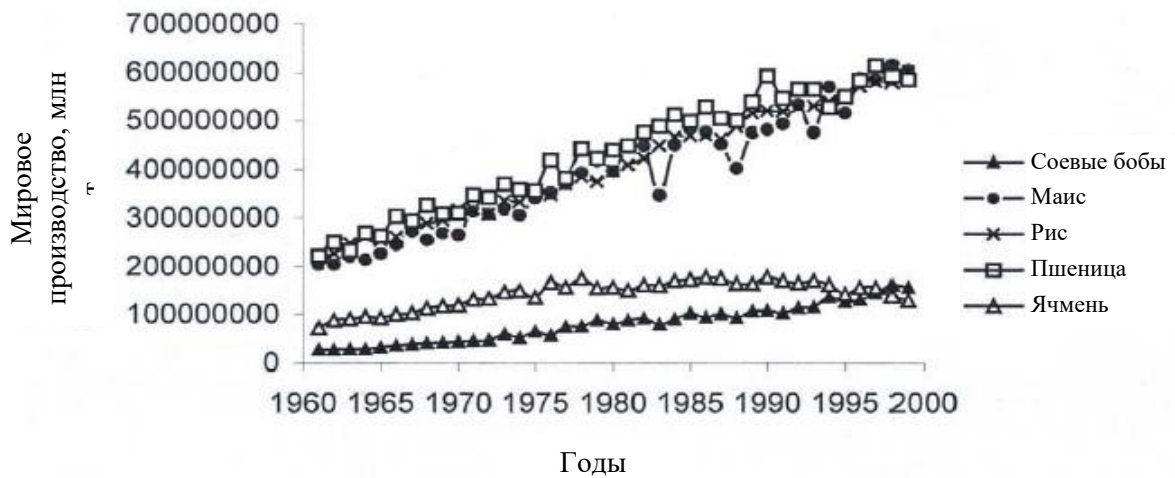


Рисунок 1 - Мировое производство основных сельскохозяйственных культур [173]

С учетом этих процессов цены на основные сельскохозяйственные культуры не выросли, как ожидалось, а рыночная стоимость белка растительного происхождения постоянно снижалась, что негативно сказывалось на продажах клеточного белка (Рисунок 2)

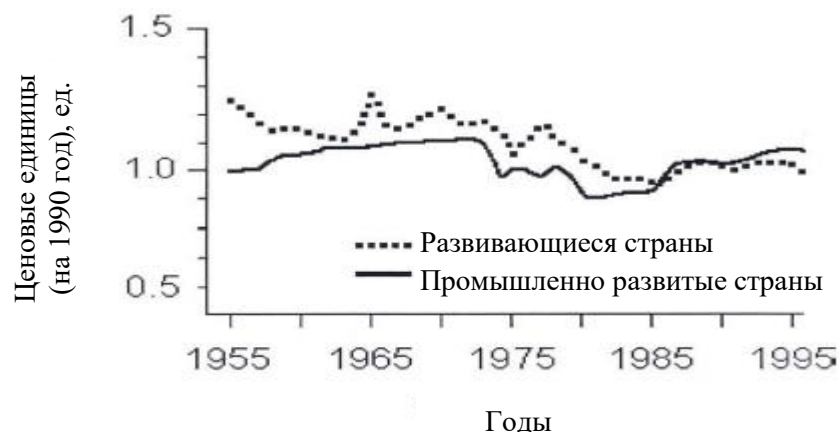


Рисунок 2 - Реальные цены на сельскохозяйственный экспорт из промышленных и развивающихся стран [172].

Вследствие этого производство клеточного белка было практически

прекращено, оставив после себя достаточно много знаний и навыков, которые стали успешно применяться в других областях, где используются микроорганизмы. Количество исследований в этой области также сократились в соответствии с тенденциями рынка (Рисунок 3).

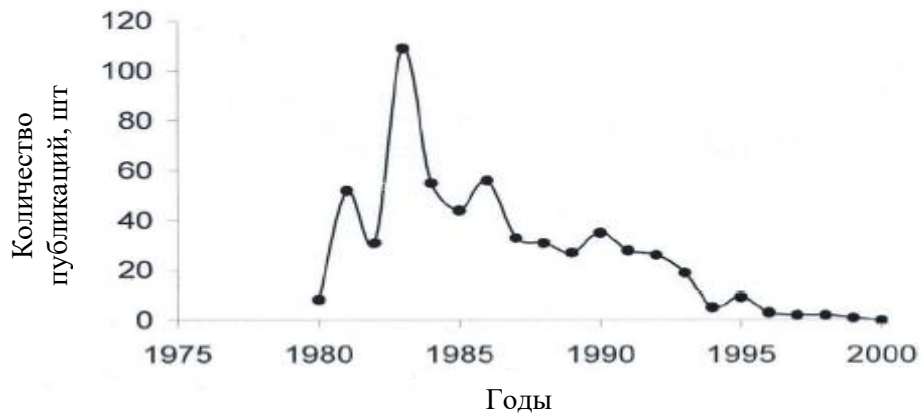


Рисунок 3 - Количество научных статей, цитируемых по ключевым словам «клеточный белок» [107].

Тем не менее, спустя некоторое время спрос на кормовой белок микробного происхождения стал расти, исследования по его получению возобновились и актуальность его получения сегодня достаточно высока.

1.2 Особенности применения микробного белка

Микробную биомассу обычно рассматривают как источник белка. Однако, как и любой другой биологический материал, она также содержит нуклеиновые кислоты, компоненты клеточных стенок, липиды, минералы и витамины. Тем не менее, эти вещества имеют меньшее значение в отличие от содержания белка, который в первую очередь оценивается при получении, в том числе комовой, продукции и выражается в произведении количества общего азота и коэффициента 6,25. Однако стоит отметить, что около 10-15 % общего азота в грибах и дрожжах находится в форме нуклеиновых кислот, а они не могут быть

усвоены также как белки. Аминный азот представляет собой примерно 80 % общего азота микробной клетки, и он входит в состав всех незаменимых аминокислот, необходимых для роста, питания человека и животных. Клеточный белок по своему аминокислотному составу приближается к яичному белку, который является эталонным продуктом и обладает наиболее сбалансированным аминокислотным составом. Исключение составляет лишь отсутствие серосодержащих аминокислот. В Таблице 1 приведен сравнительный аминокислотный состав традиционных и микробных источников белка [132].

Таблица 1 - Сравнительное содержание аминокислот в разных продуктах и продуцентах клеточного белка

Аминокислоты	Пшеница	Яичный белок	<i>S. cerevisiae</i>	<i>C. lipolytica</i>	<i>P. notatum</i>
Лизин	2,8	6,5	7,7	7,8	3,9
Треонин	2,9	5,1	4,8	5,4	-
Метионин	1,5	3,2	1,7	1,6	1,0
Цистин	2,5	2,4	-	0,9	-
Триптофан	1,1	1,6	1,0	1,3	1,25
Лейцин	6,7	8,9	7,0	7,8	5,5
Валин	4,4	7,3	5,3	5,8	3,9
Фенилаланин	4,5	5,8	4,1	4,8	2,8

Для высокой эффективности применения клеточного белка в кормовых целях, как правило, необходимо провести обработку культуральной жидкости, которая позволит повысить усвояемость продукта и улучшить пищеварение животного. Это обусловлено тем, что в кормовых дрожжах не должно быть живых клеток микроорганизмов; кроме того, высвобождение цитоплазмы клеток позволяет легче усваивать азот продукта.

Самым часто применяемым методом деструкции клеточных стенок является автолиз. В качестве примера рассмотрим процесс, который включает нагревание

зрелой культуральной жидкости до 45-50 °С в течение 12-24 часов при рН 6,5. В этих условиях внутриклеточные ферменты частично разрушают клеточную стенку, а также гидролизуют белки, в результате чего образуются усвояемые пептиды. Тем не менее, этот процесс необходимо тщательно контролировать, так как многие из полученных пептидов могут способствовать ухудшению органолептических потребительских свойств продукта (нежелательный вкус и запах), что ограничивает его применение [152, 176]. Дополнительно следует отметить, что при длительном выдерживании биомассы может происходить слабое брожение, вызываемое не только дрожжами, но и бактериями, при этом потери сухого вещества составляют 5-15 %, что негативно сказывается на выходе продукта [57, 81].

Другим распространенным способом деструкции клеточной стенки является термолиз, суть которого заключается в длительном (45 минут при температуре до 75 °С) или кратковременном (2-3 минуты при температуре 110-115 °С) тепловом воздействии на клетки микроорганизмов. В течение этого времени происходит термическая инаktivация дрожжей и бактерий, что предотвращает заболевание, например кандидомикозом. Попутно снижается вязкость суспензии, разрушение пены и выделение из суспензии воздуха и диоксида углерода. При термолизе происходит частичный гидролиз белков и переход в раствор содержимого инаktivированных клеток: углеводов, органических и аминокислот [38].

Другая процедура, которая позволяет избежать образования нежелательных пептидов - механическая деструкция. Она может быть достигнута путем перетирания клеток стеклянными шариками или их разрушение ультразвуковой вибрацией. Эти воздействия нарушают целостность клеток, освобождая их внутреннее содержимое. Альтернативные методы измельчения включают замораживание культуральной жидкости и продавливание ее через узкие матрицы при давлениях до 4 000 кг/см². Такие методы в настоящее время неприменимы в больших масштабах в связи с высокой энергоемкостью и недостаточной эффективностью. Кроме того, по мнению ряда авторов, данный процесс сложно предсказуемо масштабировать [166, 168].

При высокой скорости деления клеток образуется достаточно большое

количество (до 10 % на а.с.в.) нуклеиновых кислот, которые являются неотъемлемым компонентом всех клеток. Когда нуклеиновые кислоты попадают в желудочно-кишечный тракт, они подвергаются воздействию ферментами поджелудочной железы. Полученные нуклеотиды подвергаются воздействию нуклеотидаз в кишечнике, в результате чего образуются нуклеозиды и фосфаты. Они, в свою очередь, дополнительно разрушаются до пуриновых и пиримидиновых оснований. Разрушение пуриновых оснований в ЖКТ человека приводит к получению мочевой кислоты. Накопление мочевой кислоты выше предела экскреторной способности почек приводит к образованию кристаллических отложений в суставах и мягких тканях, что приводит к подагродобным проявлениям и камням в мочевом тракте. Пиримидины деградируют до оротовой кислоты, накопление которой приводит к повреждению печени. Учитывая эти риски, применение клеточного белка для потребления человеком или животными ограничено количеством нуклеиновой кислоты [107, 176].

Проблему высокого содержания нуклеиновых кислот можно решить при помощи щелочного гидролиза. Данный процесс способен разрушать нуклеиновые кислоты, но при этом снижается питательная ценность белкового компонента. Эффективным компромиссным методом является выдерживание при pH 9,5 с последующим резким тепловым ударом, что способствует осаждению белка. В некоторых технологиях применяют нагрев до 60 °C с последующей обработкой панкреатической рибонуклеазой, снижая содержание нуклеиновой кислоты с 9 % до 2 % [166].

Токсикологические исследования с учетом всех аспектов, кроме содержания нуклеиновых кислот, таких как аллергенность и мутагенность, показывают, что клеточный белок удовлетворяет всем требованиям безопасности, предъявляемым к кормовой продукции. [166]. В итоге, клеточный белок микробного происхождения может быть использован как источник усваиваемого азота, но содержание в нем нуклеиновой кислоты, а также дефицит серосодержащих аминокислот делают его пищевой добавкой, которая должна быть использована совместно с другими компенсирующими источниками белка. Клеточный белок микробного

происхождения включают в корма для животных. Как правило, добавление до 10 % кормовых дрожжей в смеси с другими компонентами, обеспечивающими углеводы, липиды и витамины, показывает превосходные результаты по приросту живой массы. Дрожжевой белок чаще всего включается в состав кормовых продуктов для птицы и аквакультур [98, 139, 144].

1.3 Анализ современного рынка кормовой продукции РФ

Доля кормов в себестоимости производства молока занимает не менее 50 %, при производстве свинины – от 70 до 75 %, при производстве говядины – от 65 % до 70 %. Состояние рынка кормов – постоянный объект наблюдения и анализа для животноводческих и птицеводческих хозяйств, особенно в текущих меняющихся экономических условиях [71].

Российский рынок кормов в сельскохозяйственном секторе можно разбить на следующие сегменты:

- Корма, предназначенные для животных, птиц и рыб, как промышленного производства, так и изготовленные непосредственно в хозяйстве (корма, комбикорма - смеси зернового сырья, продуктов с высоким содержанием белка, витаминов и микроэлементов, сено, отруби, измельченное зерно, овсяная и травяная мука, жмыхи, дрожжи, шрот и пр.);

- Смеси для балансирования кормовых рационов (премиксы). Они могут содержать разнообразные функциональные компоненты, в большинстве случаев в составе присутствуют витамины и минералы, но в сложные премиксы включены также аминокислоты, ферменты (энзимы) и другие составляющие [71].

Кроме того, существует еще один сегмент — кормовые концентраты (белковые минерально-витаминные добавки — БМВД, белково-витаминно-минеральные концентраты — БВМК, витаминно-минеральные концентраты — ВМК). По своей сути концентраты — это менее концентрированные премиксы, обогащенные белком (за исключением ВМК), а в некоторых рецептурах также углеводами и жирами, больше подходящие для использования хозяйствами,

имеющими кормовую базу и нуждающимися в ее обогащении и балансировании, но при этом не обладающими технологическими возможностями для использования премиксов. Если процент ввода премиксов в корм в среднем составляет 1 %, то концентратов — 6-25 % (3-5 % для ВМК). Благодаря высокому проценту ввода они хорошо смешиваются с зерновой составляющей корма и предъявляют минимальные технологические требования к оборудованию для кормопроизводства. Кроме того, в отдельных случаях концентраты используют в самостоятельном виде в качестве высокоэнергетического корма, обогащенного протеином и сбалансированного по витаминно-минеральной части, хотя большинство рецептов такого не допускают [71, 98].

Комбикорма

Российский рынок комбикормов для сельскохозяйственных животных ощутимо изменился в последнее десятилетие. Производство кормов теперь в большей степени сосредоточилось в руках животноводов. Собственные производства имеют не только агрохолдинги, но и многие крупные независимые фермы. В настоящее время из примерно 240 заводов и цехов, выпускающих комбикорма, всего около 10 % — независимые, и эта доля имеет тенденцию к сокращению [71, 98].

В структуре выпуска 51,8 % приходится на комбикорм для сельскохозяйственной птицы, 40,1 % для свиней, 8,8 % для крупного рогатого скота (КРС) и 1,1 % для прочих сельскохозяйственных животных.

Связано это с тем, что все крупные хозяйства кормят птицу исключительно комбикормами, а учитывая значительное поголовье, это и определяет спрос. На втором месте по объемам производства комбикорма для свиней — почти 40 %.

Импорт готовых комбикормов не превышает 1 %, чего нельзя сказать о компонентах для их приготовления, а также нишевой и специализированной продукции. Экспорт крайне незначительный и представляет собой разовые поставки в страны ближнего зарубежья.

В последние 10 лет выпуск комбикормов прирастал в среднем на 6 - 7 % ежегодно. Но с 2017 года темп увеличения рынка замедлился до 2 -3 % в год.

Связано это со вспышками заболеваний сельскохозяйственных животных по всему миру, резким удорожанием витаминов и других импортных компонентов кормов: соевого шрота, фуражного зерна. Комплекс причин привел к сокращению спроса со стороны животноводства, росту цен на компоненты комбикорма и в итоге к снижению рентабельности производств. Основной проблемой отечественного рынка комбикормов является зависимость от зарубежных поставок компонентов кормов и технологических решений при строительстве новых и реконструкции действующих кормоцехов [71].

Премиксы

Как правило, в их состав входит наполнитель, в качестве которого часто используются отруби, измельченное зерно, овсяная и травяная мука, жмыхи, дрожжи, шрот и др. Функциональная составляющая — это биологически активные вещества (БАВ), в том числе витамины, микроэлементы, макроэлементы, аминокислоты, ферменты, вкусо-ароматические добавки, антиоксиданты, химико-терапевтические препараты и т. п.

Их рецептура разрабатывается для решения конкретных задач и учитывает вид, возраст, направление продуктивности животного. Производство премиксов требует серьезной научной и технологической базы, поэтому число заводов и цехов по изготовлению премиксов существенно ниже, чем комбикормовых — не более 50.

Объем российского производства премиксов в 2019 году (Рисунок 4), согласно данным официальной статистики, составил 508,3 тыс. т.

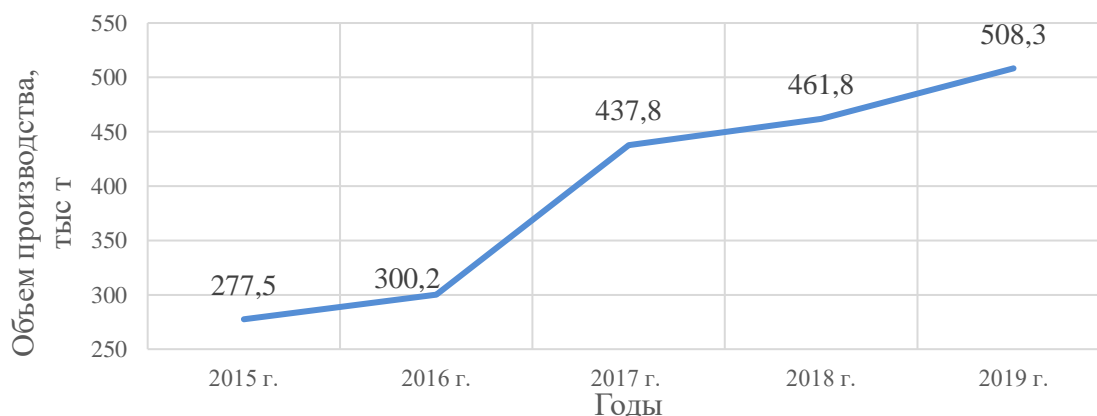


Рисунок 4 – Объем производства премиксов в России

В последнее время рост данного рынка тоже замедлился — примерно до 7,1 % в среднем, чему способствовали те же причины, которые замедлили комбикормовый сегмент [42, 71].

Доля импортных премиксов в потреблении в 2019 году оценивается примерно в 6 % в натуральном выражении (против 46 % в 2010-м). Показатель имеет тенденцию к сокращению, и ожидается, что в скором времени возможно полное обеспечение своих потребностей в данном кормовом продукте [71].

Экспорт премиксов более гибкий, объемы внешних поставок меняются из года в год. Отечественные премиксы имеют высокие показатели качества, однако не всегда конкурентоспособны по цене, поскольку до 90 % используемых при их производстве компонентов импортные, что определяет зависимость цен от большого числа экономических и политических причин. Таким образом, главной проблемой отрасли производства премиксов является зависимость от поставок сырья и технологий (применяемое на производствах оборудование преимущественно импортное) [42, 71].

Кормовые добавки

Важнейшая часть любого комплексного рациона — кормовые добавки. На рынке представлены как отдельные функциональные элементы (витамины, минералы, ферменты, аминокислоты, антибиотики, белки и т. п.), так и комплексы из нескольких компонентов. Кормовые добавки используются как производителями комбикормов, концентратов и премиксов, так и хозяйствами для самостоятельного введения в кормовую базу. На конец марта 2020 года Россельхознадзором было зарегистрировано 2955 кормовых добавок, из них 605 (20 %) — отечественного производства.

Россия в высокой степени зависима от импорта этих элементов (Рисунок 5), поскольку внутреннего производства многих компонентов в нашей стране нет, либо производства не могут удовлетворить внутреннюю потребность. Тем не менее, в стране выпускаются пробиотики и пребиотики, отдельные ферменты и минералы, функциональные добавки и т. п. Всего на российском рынке кормовых добавок представлены около 160 отечественных производителей и более 700 зарубежных [71].

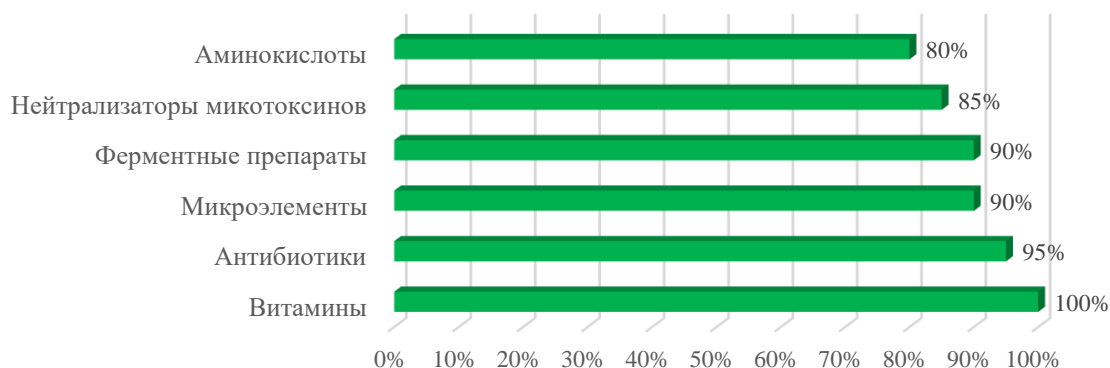


Рисунок 5 – Импортная зависимость по кормовым добавкам на март 2020 года

Потребность в кормовых добавках возрастает, что обусловлено как естественным увеличением потребления кормов и премиксов из-за роста поголовья и интенсификации сельского хозяйства, так и тенденциями в животноводстве: повышением конкуренции (в связи с глобализацией и открытыми границами конкурировать приходится не только на внутреннем рынке) и значимости эффективной организации производства (из-за той же конкуренции, снижения рентабельности, экономической нестабильности и пр.), а также, как следствие, использованием животных и птиц с высоким генетическим потенциалом, для реализации которого необходимы современные высококачественные корма [71].

В последние годы все чаще обсуждается вопрос о необходимости возрождения российского рынка кормовых добавок, поскольку руководство страны ставит амбициозные задачи развития сельского хозяйства для самообеспечения продовольствием и увеличения присутствия на мировых рынках. Однако это требует значительных вложений и, учитывая экономическую ситуацию и особенности функционирования отрасли, влечет за собой ряд рисков [32].

В России на государственном уровне принят ряд документов, ставящих цели дальнейшего развития сельского хозяйства. Однако фокуса именно на кормовых добавках в них не было вплоть до 2018 года, когда Минсельхоз представил проект подпрограммы «Развитие производства кормов и кормовых добавок для животных» в рамках Федеральной научно-технической программы развития сельского хозяйства на 2017-2030 годы (ФНТП). Особенностью документа являлась его

направленность на развитие российских технологий, в том числе на стимулирование производства комбикормов и их компонентов

Экспертное сообщество оценило необходимость такой программы, но отметило ее недоработанность, осторожность и сомнительную эффективность, в первую очередь, из-за небольшого расчетного финансирования — всего 5 млрд. руб. на период до 2025 года [42, 71].

Статистика за 2015-2020 годы

По данным Росстата расход кормов скоту и птице в натуральном выражении в 2020 году составил 1,06 млн. тонн кормовых единиц. За шесть лет объем потребления кормов в отечественном сельскохозяйственном секторе увеличился на 1,6 % в натуральном выражении. Среднегодовой темп роста потребления кормов за период составил +0,3 % в натуральном выражении (Рисунок 6) [69].

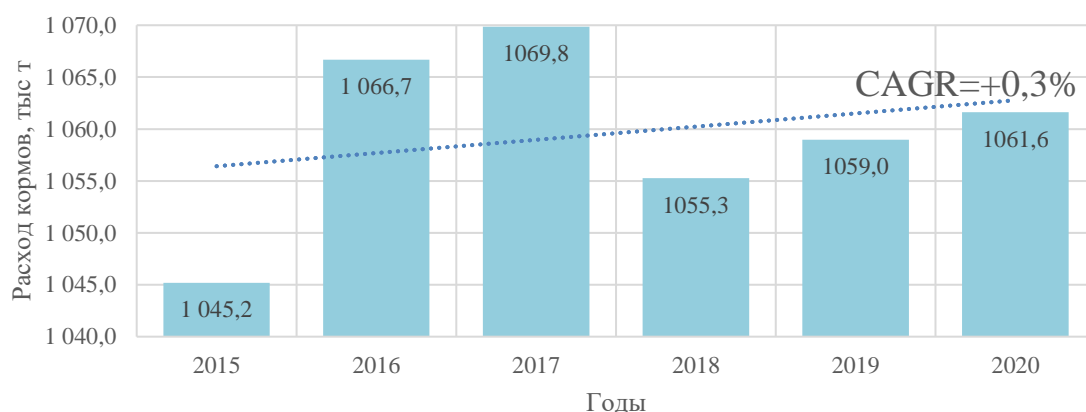


Рисунок 6 - Расход кормов скоту и птице в сельскохозяйственном секторе России

Объем скормленных скоту и птице кормов всех видов (грубых, сочных, концентрированных, пастбищных и других) исчисляется в пересчете на кормовые единицы и определяется как в целом по всем видам скота и птицы, так и для их отдельных видов [29, 69].

Кормовая единица (к.е.) служит для сравнения питательной ценности различных кормов. Утверждена Комитетом стандартизации СССР при СТО овсяная к.е., равная 1 кг овса среднего качества. В ее основе лежит крахмальная единица, предложенная немецким ученым Оскаром Кельнером, сравнивавшим все корма с питательной ценностью чистого крахмала. 1 кг овса равняется по питательной

ценности 0,6 кг крахмала. На практике пользуются готовыми таблицами, где указано, сколько кг того или иного корма равняется по питательности 1 кг овса, или 1 к. е. [33]. В 2020 году физический объем российского рынка готовых кормов (отечественное производства и импорт), составил 36,6 млн. тонн продукции. За шесть лет рынок вырос на 37,3 % — с 26,7 млн тонн в 2015 году. Совокупный среднегодовой темп роста рынка $CAGR_{2015-2020}$ составил +6,5 %, что является достаточно динамичным показателем (Рисунок 7).

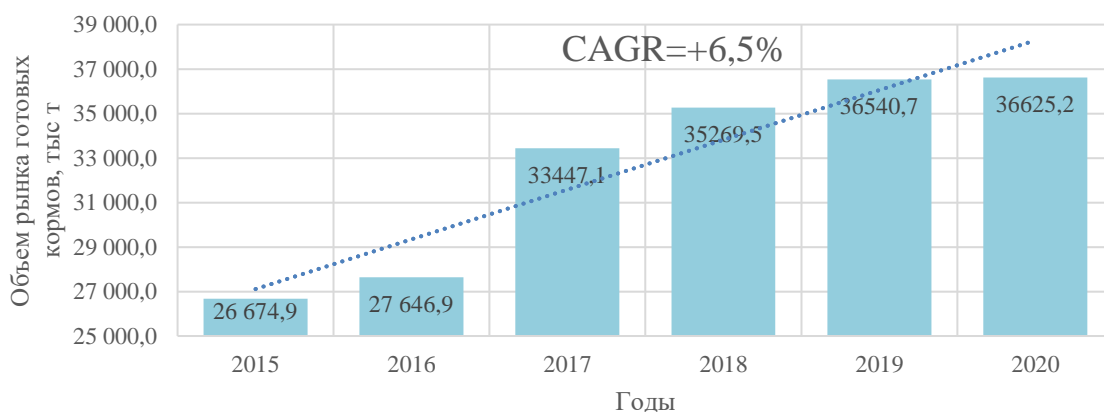


Рисунок 7 - Физический объем российского рынка готовых кормов (кормов, премиксов, комбикормов, добавок и смесей)

За 2020 год рынок в натуральном выражении вырос незначительно – всего на 0,2 %. Связано это было в первую очередь с ростом цен на корма в 2020 году [10]. Стоимостной объем рынка готовых кормов рос более высокими темпами: в 2020 году объем рынка составил 629,3 млрд. руб. За шесть лет рынок вырос на 50,4 % – с 418,4 млрд. руб. в 2015 году. Динамика рынка демонстрирует среднегодовые темпы $CAGR_{2015-2020}$ +8,5 %. За 2020 год стоимостной объем рынка вырос на 5 % (с 598,5 млрд. руб. в 2019 году) (Рисунок 8) [29, 67].

Среднерыночные цены на готовые корма за 2020 год выросли почти на 5 % — с 16,3 тыс. руб. за тонну продукции в 2019 году до 17,1 тыс. руб. за тонну – несмотря на относительно невысокую динамику цен в целом за период ($CAGR_{2015-2020}$ +1,8 %).

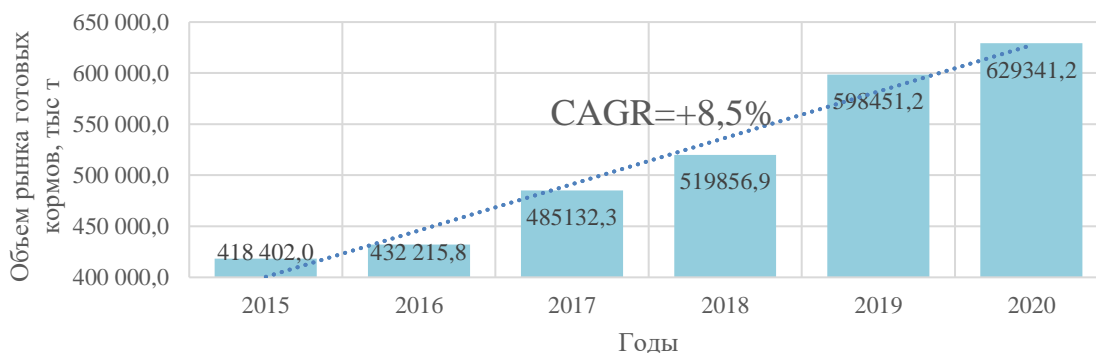


Рисунок 8 - Стоимостной объем российского рынка готовых кормов (кормов, премиксов, комбикормов, добавок и смесей)

Федеральная служба государственной статистики учитывает следующие категории готовых кормов для сельскохозяйственных животных:

- корма растительные;
- корма животные сухие;
- корма из рыбы, мяса китов и других водных млекопитающих;
- консервы кормовые для сельскохозяйственных животных;
- корма вареные;
- комбикорма;
- прочие корма для сельскохозяйственных животных.

В 2020 году соотношение между объемами производства перечисленных категорий представлено на Рисунке 9 [23, 32, 59].

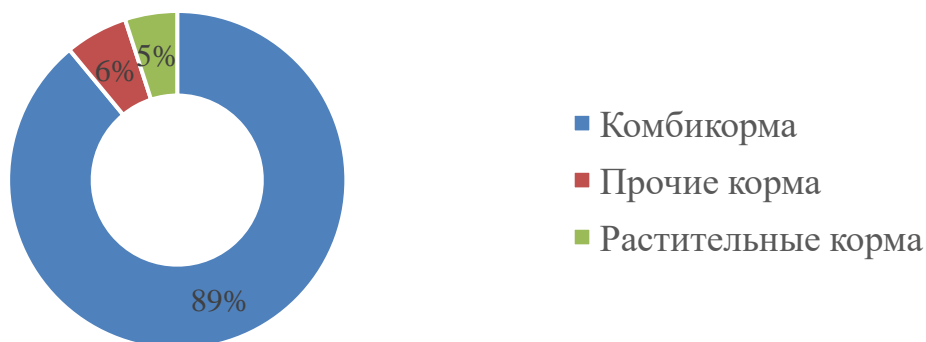


Рисунок 9 - Производство кормов для сельскохозяйственных животных

Согласно прогнозам Организации экономического сотрудничества и развития, рост мирового потребления мясных белков в следующем десятилетии увеличится на 14 % к 2030 году по сравнению со средним показателем за базовый период 2018-2020 годов, в основном за счет доходов и роста населения. Все это создает предпосылки для роста рынка кормов для сельскохозяйственных животных.

Ожидается, что к 2030 году доступность белка из говядины, свинины, птицы и баранины вырастет на 5,9 %, 13,1 %, 17,8 % и 15,7 % соответственно [69].

Статистика за 2021-2022 годы

В 2021-22 годах тенденция к росту цен на корма и кормовые добавки продолжилась. В основном росла цена на большинство ключевых компонентов кормов для сельскохозяйственных животных и кормовые добавки [69].

Основными провоцирующими рост цен на корма факторами продолжают оставаться общемировой рост цен на их основной компонент – зерновые и масличные, а также разрушение и вынужденное перестроение логистических цепочек поставок иных компонентов кормов.

В январе–марте 2022 года средние цены производителей на жмых и иные твердые остатки растительных жиров или масел увеличились на 7 % по сравнению с тем же периодом 2021 года. При этом в марте средние расценки на внутреннем рынке увеличились на 2 % по сравнению с февралем; а в годовом исчислении рост составил 12 % [94].

Средние цены на растительные корма за январь–март 2022 года по сравнению с аналогичным периодом 2021 года снизились на 8 %. Но если говорить о росте цен в значении месяц к месяцу, то в марте наблюдался резкий скачок цен, когда растительные корма по сравнению с ценами февраля увеличились почти на 40 %.

В январе–марте 2022 года средние расценки российских производителей кормового белка выросли на 30 % относительно 2021 года.

Средняя цена на премиксы также увеличивается. В январе–марте 2022 года средние цены на них выросли на 51 % относительно указанных значений в этот период год к году. В марте 2022 года средние расценки производителей премиксов были на 58 % выше, чем год назад. Стоит отметить, что на территории Центрального

федерального округа в этот период рост цен на премиксы достиг 82 % относительно уровня прошлого года [69, 94].

Аналогичная ситуация сложилась с ценами на комбикорма. В январе–марте 2022 года производители подняли цены 21 % по сравнению с 2021 годом. Рост цен от месяца к месяцу был более сглаженным – по сравнению с февралем в марте средняя стоимость комбикорма выросла на 2,6 % [67, 69].

Самый значительный рост цен наблюдался в сегменте кормов для сельскохозяйственной птицы – 23 % за январь–март 2022 года по сравнению с тем же периодом 2021 года. Комбикорма для свиней год к году подорожали на 19 %, для КРС – на 10 %. Стоимость комбикорма для птицы выросла на 3,6 %, для свиней на 1,5 %, для КРС на 1,7 %.

Концентраты и кормовые смеси также продолжили дорожать. В январе–марте 2022 года средние расценки выросли на 16 % по сравнению с ценами 2021 года. Однако в марте стоимость концентратов и смесей, напротив, снизилась на 5,5 % относительно февраля. Среди регионов наиболее всего увеличились цены в ЦФО – на 44 %, по сравнению с тем же периодом 2021 года.

Аминокислоты – самый импортозависимый сегмент при производстве кормов. Рост цен на них показал в первом квартале 2022 года значительное увеличение. Метионин подорожал по сравнению с тем же периодом 2021 года на 41 %. Цена бельгийского метионина, который составляет основную долю российского импорта, выросла на 35 %.

На 50 % по сравнению с показателями первого квартала 2021 года выросла цена на лизин, на 16 % подорожал валин, цена на бетаин увеличилась в 2 раза. Основным внешним поставщиком этих добавок российским производителям кормов является Китай. Триптофан китайского производства показал прибавку в цене в 15 %, южнокорейского – 12 % [67, 94].

Цены на витамины, которые используются в добавках в корма сельскохозяйственным животным, также не были стабильными год к году. Так, стоимость витамина А снизилась на 3 %, витамина D3 – на 20 %, витамина Е – на 10 %. Снижение во многом связано с увеличением внутренних объемов производства.

По итогам первых трех месяцев 2022 года производство кормов в России, которое включает в себя комбикорма, премиксы, растительные корма и иные виды кормов выросло на 7 %. Подавляющую часть в структуре производства кормов в России составляют комбикорма (Рисунок 10) [67, 69].

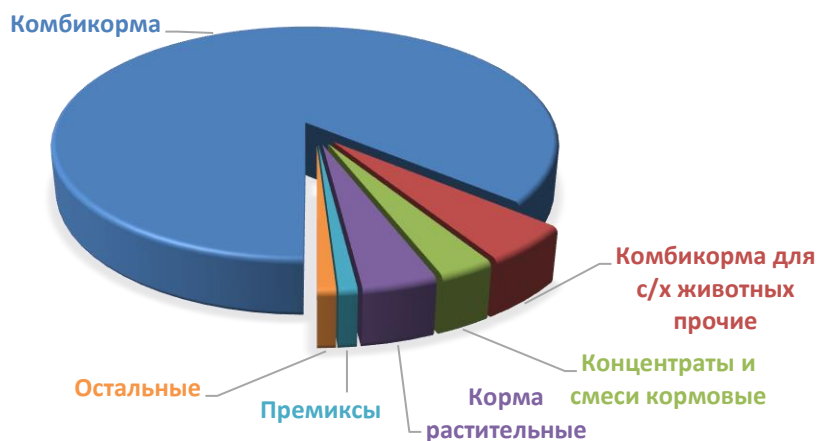


Рисунок 10 - Структура производства кормов в России

В 1-м квартале 2022 года в России произвели около 9,5 млн. т кормов всех видов. Наибольший объем выпуска кормов – 42 % (или 4,1 млн. т) обеспечили производители Центрального федерального округа.

Производство комбикормов в 1-м квартале 2022 года выросло на 9 % по сравнению с предыдущим годом и составило 8,3 млн. т. Больше всего комбикормов произвели для сельскохозяйственной птицы – 4 млн. т, для свиней произвели 3,5 млн. т, для крупного рогатого скота объем производства комбикорма составил 716,5 тыс. т. (Рисунок 11).

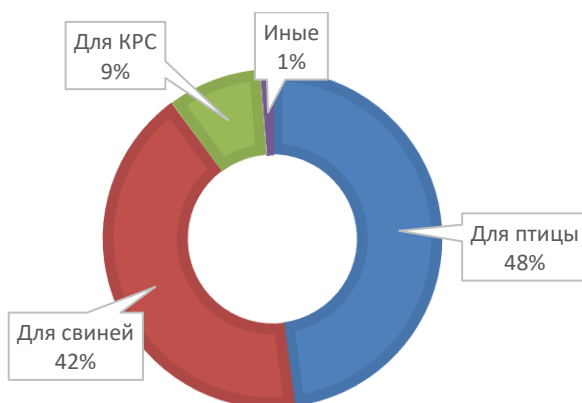


Рисунок 11 - Структура производства комбикормов

Внутреннее производство премиксов также показало рост в 1-м квартале 2022 года, он составил 11 %. Специальных кормовых добавок произвели в России 127 тыс. т.

Поставки извне кормовых добавок и витаминов выросли в марте 2022 года на 23 %. Так, импорт метионина в первые три месяца составил 9,3 тыс. т. Треонина в I квартале 2022 года в Россию ввезли на 29 % больше, чем за этот же период прошлого года. На 11 % выросли поставки триптофана. Пятикратный рост показал рынок валина и в три раза вырос рынок бетаина.

Основным поставщиком кормовых добавок на российский рынок является Китай, также поставляют кормовые добавки в Россию, Япония и Корея [29, 69, 94].

1.4 Химический состав кормов

Показателем качества корма является его химический состав. Чем больше в корме содержится воды, тем ниже (при прочих равных условиях) эффективность его применения, так как в сухом веществе сконцентрирована энергия корма [24, 89].

Из компонентов сухого вещества важную физиологическую роль играет протеин. В зоотехнической практике к сырому протеину относят белки и амиды. Наибольшую ценность представляют белки. Белки входят в состав веществ, играющих важную роль в пищеварительных, обменных и защитных реакциях организма. Все жизненные процессы связаны с белковым обменом. У жвачных животных значительная роль в обмене протеина принадлежит микробиологическим процессам, происходящим в рубце. Здесь часть кормового белка расщепляется до аммиака, который бактерии превращают в белок своего тела. Микроорганизмы, размножаясь, создают большую массу белка, который совместно с оставшимся белком корма участвует в дальнейшем обмене [89].

Амиды - азотистые вещества небелкового характера. В эту разнообразную группу входят амиды аминокислот, содержащие азот глюкозиды, органические основания, нитриты и аммиачные соли. Значительная часть амидов является или промежуточным продуктом при синтезе белка в растении из неорганических

веществ, или образуется при распаде белков под действием ферментов бактерий [27].

Преобладающую часть питательных веществ растительных кормов составляют углеводы, количество которых в корме определяет уровень энергетического питания. В зоотехнике к группе углеводов относят сырую клетчатку и безазотистые экстрактивные вещества. В состав сырой клетчатки входят собственно клетчатка, или целлюлоза, часть гемицеллюлоз - пентозаны и гексозаны, «инкрустирующие» вещества - лигнин, кутин, суберин. Высокий процент клетчатки в корме указывает на низкую его питательность для животного [24].

Безазотистые экстрактивные вещества (БЭВ) в кормах в основном представлены крахмалом и сахарами. Крахмал является резервным источником энергии для растений и животных. Уровень легкоперевариваемых углеводов (сахар + крахмал) в рационе имеет существенное значение для жвачных животных. Для удовлетворения их потребностей в легко перевариваемых углеводах в рационах должно содержаться 80-120 г сахара на 1 кормовую единицу в соотношении 1:1 с протеином. Содержание крахмала при этом должно быть таким же или выше, чем сахаров в 1,5- 2,0 раза, а суммарное отношение легкопереваримых углеводов к протеину 2,5-3,1 [33].

За 1 кормовую единицу принимается 1 кг сухого овса среднего качества, при скармливании которого у животных откладывается 150 г жира, что эквивалентно 1 414 ккал [27, 36]. Так зерно кукурузы содержит 0,2 к.е., пшеничные отруби от 0,52 до 0,98 к.е., подсолнечный жмых – 1,09 к.е., соевый шрот – 1,19 к.е., сухая зерновая барда до 0,96 к.е., сухая пивная дробина до 0,80 к.е., сухие пивные дрожжи – 1,12 к.е., сухие кормовые дрожжи от 1,05 до 1,30 к.е. [33].

Нормальный обмен веществ, состояние здоровья, рост и развитие, продуктивность животных нарушается при недостатке в кормах витаминов А, В, Д, К и др. Они необходимы для размножения и роста клеток, для повышения сопротивляемости организма к инфекционным заболеваниям [6, 8, 34, 66]. В связи с этим корма на основе вторичных сырьевых ресурсов, содержащих в своем составе перечисленные витамины, удовлетворяют потребностям животноводства.

Таким образом, питательная ценность кормопродуктов определяется содержанием сухих веществ, в том числе, белков аминокислот, легкоперевариваемых углеводов и витаминов, а также сбалансированностью по углеводно-протеиновому соотношению.

1.5 Сырье и микроорганизмы-продуценты для получения протеиновых кормовых продуктов

Выбор субстратов, которые, как правило, в значительных количествах образуются в непосредственной близости от производства кормового продукта, определяет дизайн и стратегию развития процессов получения клеточного белка. К наиболее распространенным и широко используемым субстратам для производства клеточного белка относятся те, которые содержат источник энергии в виде углеводов. Это связано с тем, что моно- и дисахариды являются природными микробными субстратами и возобновляемым ресурсом, который широко распространен [49, 82, 85].

Меласса

Меласса является побочным продуктом процесса производства сахара. Концентрированный сахарный раствор, полученный после измельчения сахарного тростника или сахарной свеклы, охлаждается с ростом кристаллов сахара. Когда из раствора не кристаллизуется больше сахара, получается «сироп» (меласса), содержащий около 50 % сахарозы. На каждые 100 кг растения можно получить от 3,5 до 4,5 кг мелассы [147]. Тот факт, что меласса может быть извлечена по меньшей мере из двух видов растений, адаптированных к тропическому и умеренному климату, позволяет получать мелассу в широком диапазоне географических мест.

Помимо высокого содержания сахара, меласса содержит минералы, органические соединения и витамины, которые являются ценными питательными веществами (Таблица 2) [72, 146].

Таблица 2 - Средние значения для некоторых составляющих мелассы свекловичной и тростниковой при 75 % (масс./масс.) сухого вещества

Компонент	Свекловичная меласса	Тростниковая меласса
Углеводы, %	48-52	48-56
Белок, %	6-10	2-4
Органические вещества (за иск. белков и углеводов), %	12-17	9-12
Калий, %	2-4	1,5-5,0
Кальций, %	0,1-0,5	0,4-0,8
Магний, %	0,09	0,06
Фосфор, %	0,02-0,07	0,6-2,0
Биотин, мг/кг	0,02-0,15	1-3
Пантотеновая кислота, мг/кг	50-110	15-55
Инозитол, мг/кг	5 000-8 000	2 500-6 000
Тиамин, мг/кг	1,3	1,8

Около 9 % сухих веществ в дрожжах, выращенных на мелассе, образуется из веществ, отличных от сахарозы [72, 146]. Вследствие этого, производство биомассы из мелассы требует добавления подходящего источника азота, а также фосфора. Традиционными источниками азота являются аммиак или аммониевые соли, фосфор также может быть добавлен в виде солей. Пекарские дрожжи были первыми микроорганизмами, которые производились в условиях аэробной ферментации на мелассе [99, 186], и они все еще производятся сегодня

Крахмал

Наиболее дешевым и эффективным субстратом с углеводной составляющей является крахмал - самый распространенный углевод, который может быть получен из клубневых растений тропических и умеренных поясов, из риса, кукурузы и злаков [25, 53, 55], в тоже время при его производстве образуются крахмалсодержащие отходы, которые могут выступать в качестве ВСР. В странах тропического пояса источником крахмала для получения клеточного белка является маниока [126].

В Швеции была разработана технология [133, 147], основанная на совместном культивировании двух рас дрожжей в смешанной культуре: *Endomycopsis fibuligira*, являющуюся продуцентом амилаз, и *Candida utilis*, которая способна интенсивно накапливать биомассу. Процесс состоит из трех стадий: отходы крахмала из клубней картофеля подаются через теплообменники и стерилизуются. Затем среду подают в первый биореактор, где дрожжи гидролизуют крахмал и растут. Затем гидролизованный раствор подают во второй реактор, где условия культивирования благоприятствуют активному росту *C. utilis*. В настоящее время данное производство работает, используя в качестве сырья глюкозу, полученную из кукурузы, но имеется опыт работы на пшеничном крахмале, побочном продукте производства пшеничного глютена (белковой фракции) и пшеничной муки [174, 175]. Это означает, что данный процесс может быть реализован с использованием различных источников углеводов [96, 169].

Молочная сыворотка

Сыворотка - остаточная жидкость, полученная после удаления белка и жира из молока. Сыворотка традиционно образуется в производстве сыра, где фракция белка, соответствующая лактальбуминам и лактоглобулинам, включена в фракцию казеина, и все протеины находятся в нативной форме. При производстве 1 кг сыра образуется приблизительно 9 кг сыворотки [106] в ее состав входит основной компонент - лактоза (4-6 % масс./об.), а также другие питательные вещества, которые также находятся в значительных количествах (Таблица 3) [140].

Таблица 3 - Состав молочной сыворотки

Компонент	% масс./об.
Вода	92,6-93,5
Лактоза	4,5-5,2
Белок	0,3-1,0
Минеральные соли	0,6-0,9
Молочная кислота	0,2-0,3

Сыворотка образуется в очень больших количествах практически везде, где есть производство сыра. В 1956 году французская молочная компания *Fromageries Bel* начала производство дрожжей из сыворотки, используя лактозу, ассимилируемую *Kluveromyces marxianus* (ранее *K. fragilis*). В 1983 году компания производила 8000 тонн дрожжей по непрерывной технологии [143]. Хотя подобное производство было позже организовано в других западноевропейских странах, а также в США, производство *Fromageries Bel* было самым крупным с использованием сывороточного субстрата в мире. Получаемые дрожжи в основном предназначались для кормовых целей.

Предельные углеводороды

Алканы считались привлекательным субстратом для производства клеточного белка, особенно на территории СССР, где дефицит кормового белка мог быть восполнен за счет культивации микроорганизмов способных ассимилировать нефтепродукты. Известно достаточно много микроорганизмов способных ассимилировать n-алканы и 1-алкены в жидкой культуре (Таблица 4) [155].

Таблица 4 - Рода дрожжей и мицелиальных грибов, способных использовать алифатические углеводороды для роста

	н-алканы (парафины)	л-алканы (олефины)
Дрожжи	<i>Candida</i> <i>Hansenula</i> <i>Pichia</i> <i>Rhodotorula</i> <i>Saccharomyces</i> <i>Torulopsis</i> <i>Trichosporon</i>	<i>Candida</i> <i>Debaryomyces</i> <i>Hansenula</i> <i>Rhodotorula</i>
Мицелиальные грибы	<i>Aspergillus</i> <i>Cephalosporium</i> <i>Fusarium</i> <i>Spicaria</i> <i>Cunninghamella</i> <i>Monilia</i> <i>Mucor</i> <i>Paecilomyces</i> <i>Penicillium</i> <i>Rhizopus</i> <i>Trichoderma</i>	<i>Aspergillus</i> <i>Cephalosporium</i> <i>Fusarium</i> <i>Spicaria</i>

Производство клеточного белка из углеводов представляет собой достаточно сложный процесс. Это связано с низкой водорастворимостью субстрата, а также высокой степенью аэрации, необходимой для метаболизма продуцента белка (субстрат по существу не содержит кислорода и обладает высоким потенциалом окисления). Вследствие этого стоимость аэрации культуры относительно высока. Кроме того, процессы окисления сильно экзотермичны, а затраты на охлаждение очень высоки [119, 189]. Токсичность субстрата также вызывала вопросы к безопасности непрерывного производства клеточного белка ввиду содержащихся следовых количеств алканов.

Метанол

Метанол является побочным продуктом нефтехимической промышленности и использовался в качестве субстрата для ряда производств клеточного белка. Толерантность к метанолу и возможность его усваивать — это особенность, которая может быть обнаружена у дрожжей вида: *Hansenula*, *Pichia*, *Candida* и *Torulopsis*. У метанола есть много преимуществ перед другими нефтехимическими побочными продуктами, но главная из них заключается в летучем характере субстрата, что позволяет ему испаряться в процессе сушки. Ряд промышленных производств клеточного белка с использованием метилотрофных дрожжей был реализован в 70-е годы [122], однако все они были закрыты.

Еще одной важной особенностью метилотрофных дрожжей является их способность синтезировать белки, которые участвуют в ассимиляции метанола. Эта особенность была использована для гетерологичной экспрессии белков в экспериментальных и промышленных масштабах [127].

Целлюлоза

Целлюлоза, образуемая в сельском и лесном хозяйстве, является наиболее распространенным возобновляемым ресурсом на планете. Лесная промышленность производит до 40 % от общего объема целлюлозы и лигнина в мире. Однако при рассмотрении этих материалов в качестве потенциальных субстратов для производства клеточного белка необходимо учитывать, что они имеют структурную и защитную функции, и поэтому их гидролиз достаточно сложный процесс.

Производство клеточного белка из целлюлозы требует ее разрушения до усвояемой формы, которая может быстро утилизироваться растущими микроорганизмами [86, 88]. Поэтому субстрат необходимо подвергнуть нескольким стадиям предварительной обработки, которые включают в себя измельчение и химический или ферментативный гидролиз. Стоимость и сложность аппаратного оформления этих стадий значительно усложняет производство клеточного белка из целлюлозы, хотя несколько вариантов технологии были успешно протестированы, например, в университете штата Луизиана [106]. Несмотря на трудности, исследования по пониманию и разработке способов переработки целлюлозных материалов имеют постоянную тенденцию [123, 191]. Производство целлюлозы для производства бумаги и тканей включает в себя ряд этапов, предназначенных для удаления лигнина и гемицеллюлоз из древесины, где они действуют как составляющие клеточной стенки и в качестве цементирующих агентов, соединяющих волокна с более крупными агрегатами. Древесину готовят в среде, содержащей сульфит кальция с избытком свободного диоксида серы. Таким образом, лигнин превращается в лигносульфонаты, а гемицеллюлоза гидролизуется в моносахариды. Они, в свою очередь, могут быть далее превращены в фурфуролы.

Количество свободных сахаров в отработанном щелоке варьируется от выбранного типа обработки, так как различные волокна целлюлозы могут быть получены с разной степенью обработки, а также из-за различия в типе используемой древесины (Таблица 5) [12, 105].

Отработанный сульфитный раствор использовался в качестве субстрата для ферментации в Швеции с 1909 года, а затем и во многих других частях мира. Первым используемым штаммом был *Saccharomyces cerevisiae*, хотя этот штамм не способен метаболизировать пентозы, которые в значительных количествах содержатся в данном субстрате. Позднее были выбраны другие организмы, более подходящие для усвоения всех углеводных мономеров, а именно *Candida tropicalis* и *Candida utilis*. Тем не менее, микроорганизмы восприимчивы к сульфиту, который удаляется до процесса ферментации [184].

Таблица 5 - Состав отработанных сульфитных растворов, полученных из мягкой и твердой древесины

Компонент	Источник отработанного сульфитного раствора	
	ель	бук
Сухие вещества, %	12-14	4-16
Редуцирующие вещества (РВ), %	2,5-5,0	3,5-5,0
в том числе:		
Моносахара, %	75	70
Усвояемые РВ, %	80-90	80-85
Уксусная кислота, %	0,2-0,6	1,0-1,8
Фурфурол, г/дм ³	200-600	1000
Диоксид серы, всего, г/дм ³	3,5-8,0	3,0-7,0
Диоксид серы, свободный, г/дм ³	0,5-1,5	0,5-1,0
Общий азот, мг/дм ³	80-180	260-400
Оксид фосфора, мг/дм ³	45	100-150
Метанол, г/дм ³	0-1,1	-

Дрожжи, полученные из сульфитного раствора, использовались для кормления животных в периоды войны, но интерес к ним пропал в мирное время. Однако опыт применения культивирования пекарских дрожжей в сульфитном растворе существует в Финляндии [147]. Именно в Финляндии в 1975 году была внедрена инновационная технология, в которой используется сульфитный раствор. Процесс *Rekilo* представляет собой непрерывный процесс ферментации, в котором в качестве субстрата используются сточные воды целлюлозной фабрики, с применением нитчатого гриба *Raecilomyces variotii*. Он ассимилирует сульфитный раствор, содержащий 32 г/дм³ сахаров с выходом до 55 % масс. Данный продукт был официально принят в качестве корма в Финляндии. В 1983 году в рамках данного производства планировалось производство биомассы объемом до 7000 тонн в год [147].

Топинамбур

Топинамбур является хорошо изученной овощной, систематически описанной, многолетней клубневой культурой с достаточно широким ареалом возделывания и разнообразным применением в пищевой отрасли [31, 120].

Многофункциональные полезные свойства топинамбура доказаны научными исследованиями и практическим опытом [93, 159]. В нашей стране и за рубежом созданы и действуют технологии получения из топинамбура инулина, пектина, фруктозных сиропов и т.д. С использованием данных продуктов в качестве ингредиентов разработан достаточно широкий ассортимент рецептур получения пищевой профилактической и лечебной продукции [35, 63].

В разработанных технологиях преимущественно используют экстрактивные компоненты топинамбура. Дисперсная, нерастворимая часть топинамбура, как правило, подлежит утилизации. В то же время отличительной особенностью данной культуры является практическая ценность всех компонентов, как клубневой, так и стеблевой части. В связи с этим переработку подобного сырья целесообразно осуществлять по комплексной технологии с получением нескольких товарных продуктов. Аналогией является комплексная переработка зерна на спирт, в которой все компоненты сырья имеют потребительскую ценность, из них может быть получено до 7 товарных продуктов, таких как отруби, крахмал, клейковина, спирт, пищевые волокна, белково-углеводные кормопродукты, углекислота. При этом, как показывает практика, снижается себестоимость товарной продукции и повышается ее конкурентоспособность [1, 46, 80].

В настоящее время ведутся исследования по разработке вариантов технологии комплексной переработки топинамбура с получением спиртосодержащих продуктов (дистилляты, спирт-ректификат, биоэтанол). В рамках данных технологий предусмотрено использование дисперсной фракции с получением функциональных продуктов с высоким содержанием пищевых волокон [3].

1.6 Биотехнология производства клеточного белка

Биохимия и физиология производства биомассы

Дрожжи являются гетеротрофными организмами, поэтому производство их биомассы требует наличия источника углеводов и энергии, а также источников азота, серы, фосфора и других неорганических веществ, которые могут быть представлены в легкоусвояемых формах [170]. Хотя эти организмы проявляют высокую степень метаболической гетерогенности, существуют некоторые основные аспекты, которые могут быть применимы к физиологии большинства процессов производства клеточного белка с участием дрожжей, особенно при их культивировании на углеводсодержащих субстратах. Для примера, рассмотрим метаболизм наиболее изученных, пекарских дрожжей. Для получения 100 г сухой биомассы аэробной культуры дрожжей, выращенной на глюкозе, требуется 2 моля АТФ [147]. С изменением условий культивирования (субстрат, температура, аэрация), это соотношение может варьировать [125, 148]. Синтез АТФ у гетеротрофных организмов, растущих на глюкозе, происходит по двум связанным метаболическим механизмам. Гликолиз, в ходе которого глюкоза окисляется до пирувата (позже восстанавливается до этанола и, следовательно, называется окислительно-восстановительным механизмом) с чистым выходом АТФ - 2 моль на 1 моль потребленной глюкозы. Дыхательный путь, при котором потребляется пируват, дает 38 молей АТФ и 6 молей CO_2 в результате полного окисления глюкозы 6 молями O_2 (так называемый окислительный механизм) [125]. Поскольку выход АТФ, полученного при полном окислении глюкозы, значительно выше, чем при частичном окислении, то окислительный механизм метаболизма намного более благоприятен для производства биомассы [125, 147, 148].

Однако при окислительном метаболическом механизме необходимы два субстрата: источник углерода и кислород. Последний должен поставляться в культуру путем барботирования. Скорость диффузии через границу воздух / жидкость является ограничителем скорости для доступа кислорода в клетки в жидкой культуре [165]. Концентрация растворенного кислорода в реакторе должна всегда оставаться выше

критической точки, ниже которой скорость потребления кислорода будет зависеть от концентрации кислорода. У большинства дрожжей этот диапазон концентраций составляет 17 – 20 % от концентрации кислорода в воздухе [100].

Дрожжи обычно демонстрируют высокую способность ассимилировать углеводные субстраты через специфические транспортные механизмы и окислительно-восстановительный метаболизм, что способствует высокой скорости роста. Полученный этанол обычно токсичен для конкурирующих микробов, но может выдерживаться дрожжами до концентраций, обычно достигающих 12 % об. [125]. Таким образом, в среде с высоким содержанием углеводов в первую очередь дрожжи будут метаболизировать их путем реализации окислительно-восстановительного механизма со скоростью, значительно превышающей скорость соответствующего окислительного пути, даже при условии избытка кислорода. Такое сочетание в дополнение к осмолоерантности обеспечивает многим дрожжам конкурентное преимущество при высокой концентрации углеводов в их естественных средах обитания, таких как нектары цветов, фрукты и гидролизаты семян.

Основная цель при разработке технологии получения клеточного белка - это обеспечение условий для реализации окислительного механизма метаболизма культуры, при котором происходит максимальное окисление углеводов сырья с высоким выходом АТФ и минимальным синтезом побочных продуктов. Эта цель достигается путем обеспечения связи между гликолитическими и последующими окислительными путями посредством создания условий доступности источника углерода и кислорода [100, 109].

В идеально сбалансированной аэробной культуре до половины углерода ассимилируется при создании клеточного материала. Таким образом, рациональный выход составляет 50 % масс. [147]. Остальная часть используется для поддержания жизнедеятельности и роста клеток. Многие грибковые и дрожжевые штаммы могут ассимилировать субстрат только окислительным механизмом из-за отсутствия возможности проведения окислительно-восстановительного метаболизма. Другими словами, они могут метаболизировать пируват только окислительно и не имеют редуционной ветви, которая превращает его в этанол, лактат или другие кислоты.

Это относится к *Trichosporon cutaneum*, которые были предложены для производства клеточного белка в больших масштабах благодаря данной физиологической особенности [1].

Другие виды дрожжей способны метаболизировать гексозы оксидоредуктивно, но не пентозы или специфические дисахариды, которые только окисляются (эффект Клюйвера) [134, 162]. Эффект Клюйвера - физиологическая особенность, которая позволяет достичь высоких концентраций биомассы в условиях ограничения кислорода, с возможностью снижения затрат на аэрацию в производстве биомассы [110]. Однако использование данного эффекта целесообразно лишь при применении некоторых микроорганизмов, которые возможно культивировать на определенных средах. Информация об этом эффекте у разных микроорганизмов (главным образом в форме таксономических тестов [102]) весьма ограничена, а определение новых закономерностей связано с экспериментальным подтверждением для конкретных питательных сред, микроорганизмов и условий культивирования [110]. В любом случае, производство клеточного белка предполагает использование гетерогенных субстратов. Эта ситуация обычно приводит к преимущественно последовательному потреблению компонентов субстратов.

В некоторых случаях дрожжевые и грибковые штаммы способны одновременно ассимилировать два субстрата. Это относится к *Kluveromyces marxianus* с использованием в качестве субстрата лактозы, которые гидролизуют источник углерода внутриклеточно. Этот пример подчеркивает важность выбора штаммов, адаптированных для полного одновременного окисления источника углерода в процессе производства биомассы. Метаболическое разнообразие, встречающееся среди нетрадиционных дрожжей, хорошо документировано [150, 187]. Другой альтернативой является адаптация метаболической способности штаммов с помощью генной инженерии для того, чтобы поддерживать окислительный механизм обмена веществ даже в условиях низкой аэрации или адаптировать их к новым субстратам [160]. Это перспективный подход, который дает хорошие результаты на лабораторном уровне, но создает трудности при

получении продуктов питания и кормового белка с учетом существующих ограничений в использовании генетически модифицированных организмов, особенно в Европе [121].

Поскольку спирты, такие как этанол и метанол, являются продуктами окислительно-восстановительного обмена, их можно катаболизировать только через окислительный механизм, а скорость роста в случае этих субстратов имеет постоянный и высокий показатель, но определяется толерантностью организма к субстрату [122, 187].

Неорганические питательные вещества ассимилируются через клеточную стенку и затем включаются в органические молекулы [170]. Неорганические источники азота достаточно многочисленны и доступны благодаря низкой стоимости в большинстве стран, поскольку они также используются в качестве азотной добавки для сельского хозяйства. Неорганический азот может поставляться в виде аммиака или аммониевых солей, мочевины или нитратов [103, 116]. Органические источники азота в большинстве случаев эффективно ассимилируются [154]. Аммиак и аммониевые соли усваиваются всеми широко используемыми дрожжами и грибами. Ассимиляция мочевины включает либо деградацию уреазы внеклеточно, что приводит к образованию аммиака, либо перенос и ассимиляция через амидолазу [156]. В этом случае среда требует добавления биотина, который является кофактором фермента [151, 156]. Ассимиляция нитратов подходит для тех видов, которые обладают транспортной системой и комплексом нитратредуктазы. В этих случаях важна добавка молибдена, поскольку именно этот металл является частью активного комплекса [151, 170]. Помимо аспектов, связанных с ассимиляцией источников азота, они также влияют на профиль pH. Ассимиляция одного иона аммония приводит к образованию одного нитратного иона, потребляющего один протон. Ассимиляция мочевины является нейтральной по отношению к протонному балансу [112]. pH процесса обычно находится в диапазоне 4,5-5,5, так как дрожжи являются ацидофилами. Низкий диапазон pH дополнительно является фактором сохранения микробиологической чистоты при непрерывном культивировании.

Помимо источников азота в небольших количествах необходимы и другие компоненты. В таблице 6 представлены требования, описанные для *K. marxianus*, культивируемых на сыворотке с источником азота - $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$ и фосфора - KH_2PO_4 [111]. Невысокое необходимое содержание микроэлементов не означает, что они не важны. Дефицит одного из этих компонентов часто проявляется в снижении выхода биомассы что сказывается на экономической составляющей всего производства [128, 170].

Таблица 6 - Оптимальные концентрации микроэлементов, которые должны быть добавлены для роста *K. marxianus* на сыворотке [155].

Компонент	Концентрация, мг/дм ³	г/г атома углерода, мг
$\text{Cl}_2\text{Ca}\cdot 3,5\text{H}_2\text{O}$	200	140
$\text{MgSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$	400	280
NaCl	200	140
$\text{FeCl}_3\cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,58	0,41
$\text{ZnSO}_4\cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,53	0,38
$\text{CuSO}_4\cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0,12	0,08
$\text{MnSO}_4\cdot \text{H}_2\text{O}$	0,06	0,04
$\text{Na}_2\text{MoO}_4\cdot 2\text{H}_2\text{O}$	0,01	0,01
Никотиновая кислота	5,60	4,00
Кальция пантотенат	1,35	1,00
Биотин	0,04	0,03

Диапазон температур, при котором проводится культивирование клеточного белка, составляет 25-35 °С. Температура процесса является важным параметром, влияющим на скорость роста, диффузию кислорода и метаболическую картину культуры. Метаболическая активность, связанная с окислением субстрата и синтезом биомассы, дает экзотермический баланс, который зависит от типа используемого субстрата (Таблица 7) [155].

Таблица 7 - Влияние концентрации субстрата и клеток на потребность в кислороде и производство тепла

Микроорганизм	Субстрат	Концентрация клеток, г/дм ³	Требуемый O ₂ , г/100г клеток	Выделение тепла, кДж/100г клеток
Дрожжи	углеводы	0,5	67	591
Дрожжи	н-алканы	1,0	197	3 345

Существует общая стехиометрическая зависимость между использованием кислорода и тепловыделением, которое приближается к 13 кДж/г клеточной массы или 17 кДж/г используемого кислорода [113, 126,]. Таким образом, промышленное культивирование клеточного белка является экзотермическим и технологическая среда нуждается в охлаждении.

Кинетика роста

Необходимость производства биомассы путем ферментации способствовала большому количеству исследований, направленных на понимание основ микробного роста в количественном выражении [109, 111, 113, 116, 151, 153, 180]. Основными параметрами, характеризующими производительность процесса производства клеточного белка, являются: удельный темп роста (μ), эффективность прироста биомассы ($Y_{x/s}$) и производительность биомассы (P_x).

В условиях, благоприятных для поддержания микробного роста, определенное количество биомассы (X , г/ч) будет увеличиваться с увеличением (dX) в течение заданного периода времени (dt) в соответствии с формулой 1 или 2:

$$dX = \mu X dt \quad \frac{\text{г}}{\text{л}} \text{ или, } \quad (1)$$

$$\frac{dX}{dt} = \mu X \quad \frac{\text{г}}{\text{л} \cdot \text{ч}} \quad (2)$$

где μ - удельная скорость роста (ч^{-1}), характерная для организма в данных условиях. Удельная скорость роста μ имеет размерность обратного времени (ч^{-1}), поэтому удельная скорость роста $0,1 \text{ ч}^{-1}$ эквивалентна составной процентной скорости 10 % в час [153].

Для периодической культуры в условиях экспоненциального роста, в котором удельный темп роста можно считать постоянным, $\mu = \mu_{\max}$, интеграция этого выражения приводит к следующему уравнению (3), которое описывает количество биомассы, производимой в любой момент времени в экспоненциальной фазе:

$$X = X_0 e^{\mu_{\max}(t-t_0)} \frac{\Gamma}{L} \quad (3)$$

где X_0 - количество биомассы в начальное время (t_0), X - количество биомассы в момент времени t и μ_{\max} максимальная удельная скорость роста для эксперимента при определенных условиях, которая имеет верхний предел для каждого организма. Максимальные абсолютные значения, полученные для μ экспериментально (μ_{\max}), могут достигать значений $0,55 \text{ ч}^{-1}$ у дрожжевых и нитевидных грибов. Однако в периодической культуре рост в экспоненциальной фазе ($\mu = \mu_{\max}$) происходит в течение ограниченного периода времени. Фактически, μ имеет переменное значение, на которое влияют разные параметры роста. Таким образом, концентрация субстрата оказывает на него заметное влияние, согласно уравнению Моно (4):

$$\mu = \frac{\mu_{\max} S}{(S + K_s)} \text{ ч}^{-1} \quad (4)$$

где μ_{\max} - максимальная удельная скорость роста организма, K_s (моль/л) - константа насыщения, мера сродства организма к предельному субстрату. Можно считать, что K_s - концентрация субстрата, при которой скорость роста составляет половину μ_{\max} . Контроль концентрации субстрата был использован для контроля значения μ в культуре [141].

Эффективность прироста биомассы ($T_{x/s}$), это скорость роста микроорганизмов, не зависящая от эффективности биоконверсии субстрата в биомассу. Эффективность прироста биомассы определяется соотношением 5:

$$Y_{x/s} = \frac{\Delta x}{\Delta s} \frac{\text{г биомассы}}{\text{г субстрата}} \quad (5)$$

где Δx - увеличение биомассы, обусловленное использованием количества субстрата Δs . Максимальный выход, полученный для дрожжевой и грибковой культуры, растущей на углеводах в аэробных условиях, составляет от 0,4 до 0,5 г биомассы на 1 г субстрата. Это также считается теоретическим максимумом в

термодинамических терминах [147]. Данный показатель достижим при окислительных метаболических механизмах с условием отсутствия ограничения переноса кислорода. Максимальный прирост обычно достигается в условиях ограничения углеродного субстрата с величинами μ около 0,1-0,25 ч⁻¹.

Производительность биомассы (P_x) – это количество биомассы, производимой на объем за единицу времени для конкретного процесса ферментации (6):

$$P_x = \mu X \frac{\Gamma}{L \cdot \tau} \quad (6)$$

Этот параметр имеет важное значение в проектировании процессов дрожжегенерации, поскольку он объединяет два параметра, которые критичны с экономической точки зрения: количество продукта и время процесса.

Проектирование и управление технологическими процессами

Учитывая физиологические особенности дрожжевых организмов, необходимо контролировать лимитирующие факторы культивирования, такие как: концентрация углеводов в субстрате, а также количество кислорода для поддержания сбалансированного роста при окислительной метаболической схеме. Однако, поскольку рост микроорганизмов является процессом, зависящим от времени, это способствует постоянным изменениям всех параметров процесса, которые влияют на физиологию, но наиболее существенно - на концентрацию углеводного субстрата. Поэтому технология, позволяющая получать высокие показатели урожайности и продуктивности, должна поддерживать соответствующие условия роста в течение всего периода культивирования.

Периодическое культивирование удовлетворяет целям производства биомассы, однако непрерывный процесс культивирования лучше всего подходит для производства биомассы в промышленных масштабах. Это обусловлено постоянными изменениями условий в реакционной среде, а в случае непрерывного культивирования есть возможность их контроля путем регулирования скорости подачи углеводного питания [124, 182]. Однако по мере увеличения реакционного объема и концентрации биомассы потребность культуры в кислороде достигает уровня, который не может быть удовлетворен с технической точки зрения.

Непрерывное культивирование используется для производства биомассы, в частности хлебопекарных дрожжей [99, 148], однако нет технологии, оптимальной для производства клеточного белка из ВСП в промышленном масштабе.

Наиболее часто используемым принципом при культивировании микроорганизмов является хемостат: культивирование, основанное на заданном коэффициенте разбавления, т.е. подача субстрата осуществляется со скоростью отбора культуральной жидкости, так, что объем среды остается постоянным [108].

Промышленные технологии хемостата различны и актуальны [106, 114, 124, 136]. При культивировании микроорганизмов-продуцентов кормового белка скорости поступающей и выходящей среды в реактор и из реактора идентичны, объем остается постоянным. При сохранении этих условий, достигается стационарное состояние, когда удельный темп роста и все параметры стремятся к постоянным величинам. Если условия тщательно контролируются, процесс может поддерживаться в течение продолжительного времени. Известные технологии позволяли поддерживать эффективный процесс культивирования до шести недель [175, 188]. Это рекомендуемый временной предел связан с возрастающим риском развития посторонней микрофлоры в среде, а также появления нежелательных генетических изменений в культуре после критического числа поколений. Другим очень важным следствием является то, что в культуре хемостата удельная скорость роста μ может быть установлена скоростью разбавления (D , $ч^{-1}$) процесса ($D = F/V =$ расход/объем реактора). Могут быть реализованы и другие технические меры для контроля концентрации субстрата и кислорода в условиях стабильного состояния для любой заданной скорости разбавления. Непрерывное удаление биомассы снимает ограничения на поставку кислорода, которые актуальны для периодических систем культивирования. Для непрерывно работающей установки требуются меньшие рабочие объемы, чем для установки периодического действия. Реакционные объемы также определяют размеры всех необходимых емкостей, что играет важную роль в экономической составляющей производства.

При хемостате высокопродуктивные ($Y = 0,45-0,5$) процессы культивирования клеточного белка осуществляются в культурах дрожжей при значениях μ в

диапазоне от 0,2 до 0,3 ч⁻¹ [111, 177].

Ограничения, связанные с переносом кислорода через раздел газ-жидкость, способствовали ряду важных научных и технологических открытий, направленных на оптимизацию этого критического процесса. Массовая аэрация не выгодна по экономическим соображениям, чем выше доля газа, прокачиваемого через раствор, тем больше удельный объем, занимаемый газом, и, следовательно, объем реактора. Еще одним важным фактором является нагревание и охлаждение среды. Кроме того, общей проблемой промышленных ферментеров является появление пены на границе раздела фаз в реакторе, что вызывает повышенное давление в реакторе, разливы и опасность загрязнения. Среди различных конструкций, которые были введены в действие, барботажный ферментер и воздушный эйр-лифт ферментер были наиболее эффективны [168].

Контроль ключевых переменных процесса является критическим элементом производства клеточного белка, от переноса кислорода, концентрации субстрата и продукта до накопления минимальных количеств токсичных соединений в результате нежелательных обменных процессов, что может поставить под угрозу качество конечного продукта. Многие из них выполняются автоматически в результате развития АСУ ТП [154, 158, 167, 182]. Однако, поскольку экономическая эффективность производства клеточного белка находится под постоянным контролем из-за ценовой конкуренции с растительными белками, предпочтительными являются упрощенные способы управления, такие как контроль кислорода и pH. Экспериментально доказано, что подкисление внеклеточной среды самими клеточными культурами связано с продуцированием протонов в процессе роста клеток [112]. Это позволило в режиме онлайн оценить биомассу и синтез продуктов, связанных с ростом, посредством анализа контроля pH с использованием формальных соотношений, которые применимы для широкого круга организмов [179].

Концентрация кислорода является ключевым параметром, который должен контролироваться. Электроды, размещенные в разных местах реактора, дают информацию об уровнях растворенного кислорода в среде. В процессе

культивирования клеточного белка концентрация кислорода никогда не должна опускаться ниже критической точки. Различные устройства контроля, используемые для поддержания уровня кислорода в пределах окислительно-физиологического диапазона, включают в себя как усиленное перемешивание и аэрацию, так и более сложный контроль дозировки источника углеводов и растворенного кислорода [117, 138, 181, 190].

Биомасса, образующаяся в результате культивирования дрожжей, обычно собирается путем непрерывного центрифугирования. Этот процесс приводит к содержанию биомассы в полупродукте около 30 % масс. Затем его сушат в распылительных сушилках. Сушка один из самых ресурсозатратных и дорогих с экономической точки зрения процессов, но в результате получается стабилизированный продукт с большим сроком годности.

Экономика производства

Впечатляющее развитие технологии ферментации не произошло бы без тщательного анализа экономической состоятельности процессов. Этот аспект особенно важен с учетом необходимых инвестиций. В случае производства клеточного белка необходимость точной оценки затрат очень актуальна, поскольку в большинстве случаев продукт конкурирует с источниками белка растительного происхождения, а рентабельность предсказуемо низкая.

В качестве ключевых элементов оценки экономической эффективности используются несколько параметров [39, 77, 115, 135, 157]. Общая себестоимость продукции включает все понесенные затраты и может быть разделена на годовой объем производства, чтобы оценить стоимость единицы продукции. Обычно они разбиваются на производственные затраты плюс общие расходы. Производственные затраты включают в себя все аспекты, непосредственно связанные с производством, например, прямые эксплуатационные затраты: оплата труда и коммунальные услуги. Общие расходы включают такие понятия, как администрирование, исследования и маркетинг. Иногда подробная информация об этих статьях затрат недоступна. Однако доступные эмпирические данные, связывающие неизвестные значения одних параметров с другими, используются для построения приблизительной

картины, охватывающей все эти элементы. Учитываются и все средства, необходимые для запуска и тестирования производственного объекта перед выводом продукта на рынок. Этот параметр можно далее подразделить на основной капитал или капитал, вложенный в оборудование, землю и оборудование, и оборотный капитал, который включает запасы сырья, продукции и материалов, дебиторскую и кредиторскую задолженность. Самый простой способ рассчитать этот параметр — рассчитать доходность инвестиций в процентах. Несмотря на сложность расчётов, есть возможность провести примерную оценку затрат, которая по-прежнему подвержена высокой ошибке из-за появления неучтенных переменных. Одной из таких переменных технического характера может быть появление мутаций в культивируемых средах, что снижает эффективность процесса. Другие переменные более условны, но они могут способствовать или тормозить коммерческие процессы. Затраты на рабочую силу, цены на топливо — это всего лишь несколько переменных, которые могут непредсказуемо меняться в результате местных или глобальных событий.

Целью всех разработчиков процессов ферментации является обеспечение работы установок с минимально возможной совокупной себестоимостью продукта. В случае производства клеточного белка затраты на сырье составляют до 60 % от общей стоимости продукта, за которым следуют фиксированные затраты, связанные с производственным процессом, — 19 % [168]. Применение в качестве сырья ВСП, которые являются отходами производства, может значительно снизить себестоимость продукции.

Таким образом, основным влияющим фактором выступает стоимость субстрата, и это объясняет стремление к переработке различных видов субстратов. С этим же связан и вопрос масштаба производства. Выгоднее всего использовать оборудование большей вместимости. Однако существует эмпирическая связь между стоимостью и размером единицы оборудования. Поэтому, когда размер предприятия увеличивается с размера 1 до размера 2, стоимость увеличивается по следующей закономерности 7:

$$\frac{\text{Стоимость 1}}{\text{Стоимость 2}} = \left(\frac{\text{Размер 1}}{\text{Размер 2}} \right)^n \quad (7)$$

где n - показатель степени или масштабный коэффициент, который может быть равен от 0,7 до 0,8 применительно для производства клеточного белка [131, 137].

Так, при увеличении производительности процесса в 10 раз стоимость установки увеличивается примерно в 5 раз. Эта маржа также влияет на общую себестоимость продукции, поскольку капитальные затраты влияют на окупаемость. Принимая во внимание эти аспекты, непрерывное культивирование является наиболее выгодным с экономической точки зрения. Помимо физиологических и конструктивных различий, которые способствуют непрерывному процессу культивирования, концепция непрерывной работы оставляет минимальное время простоя. Таким образом, непрерывное культивирование обеспечивает гораздо большую прибыль при сопоставимых капитальных вложениях, чем периодический процесс. Это становится все более актуальным по мере того, как увеличивается степень автоматизации процессов, что снижает затраты на рабочую силу, связанные с непрерывной работой из-за переплаты за ночную смену. Подавляющее большинство процессов производства клеточного белка, когда-либо реализованных в промышленности, адаптированы к конструкциям непрерывного культивирования [157, 183]. Помимо основных факторов, влияющих на общую стоимость продукта, существует множество других, которые могут снизить стоимость производства. Хотя их вклад может показаться небольшим, совокупный эффект всех адекватных мер может представлять собой разницу между благоприятным и неблагоприятным экономическим балансом. Точная регулировка уровней аэрации до значений, незначительно превышающих критический предел концентрации кислорода, снижает расход на избыточную аэрацию, а также пенообразование и испарение среды. Точный подбор состава среды, которая необходима для поддержания эффективного процесса роста, приводит к экономии некоторых биологически активных веществ, например витаминов. Во многих процессах часть биомассы используется в качестве засевных дрожжей. Выбор источника азота необходимо

проводить очень тщательно, поскольку некоторые из них, например, мочевины, содержат большее количество азота на единицу веса, чем соли аммония. Избыточное количество азотистого питания приводит к накоплению в кормопродукте свободного азота, что в свою очередь может приводить к заболеваниям сельскохозяйственных животных и людей [171, 178]. Кроме того, поскольку потребление мочевины не связано с переносом протонов, можно также сэкономить на реагентах для регулирования pH [112].

Кроме упомянутых выше аспектов изменчивость рыночных цен на другие продукты, с которыми конкурирует клеточный белок, также определяет его рыночную стоимость и рентабельность его производства. Большинство продуктов, содержащих клеточный белок, появившихся на рынке продуктов питания и кормов с 1960 по 1994 год, были предназначены для использования в качестве белковых премиксов в рецептурах. Это означает, что это были оптовые препараты, конкурировавшие с другими источниками белка, которые можно было заменить в рецептурах без значимых изменений в конечном продукте. Одним из прямых конкурентов клеточного белка в западных странах были пивные дрожжи. Идентичные почти по всем характеристикам, пивные дрожжи имели горький привкус, который сохранялся в кормопродуктах, и это было главное отличие от дрожжевого белка. Однако это отход основного производства, который не зависит от рыночной стратегии производителей. Это привело к политике высокого товарооборота, снижению запасов ВСР и, как следствие, к низким рыночным ценам. Еще одним конкурентом были избыточные пекарские дрожжи. Таким образом, кормовые дрожжи не могли иметь высокую стоимость реализации на рынке ВСР. Одной из общих черт процессов получения клеточного белка является то, что в них часто перерабатывали отходы, тем самым утилизируя их. Это привело к тому, что субстрат в виде вторичных сырьевых ресурсов для производства клеточного белка мог быть получен по достаточно низким ценам. Хотя эти рассуждения имели некоторые основания, обстановка на рынке оказалась совсем иной. Поскольку ожидалось, что от производства клеточного белка будет получена прибыль, ВСР использовали как основу среды культивирования, и за их утилизацию платили.

Использование отходов создавало дополнительные проблемы в тех случаях, когда преобладал интерес к переработке отходов: объемы производства определялись не рыночным спросом на продукцию, а необходимостью ликвидации отходов. В этих случаях переработка отходов была процессом, а клеточный белок — побочным продуктом, который копился до тех пор, пока покупатели не могли договориться о выгодной продаже. Процессы с использованием сыворотки и сульфитных растворов были яркими примерами подобной схемы [147, 157]. В то время как клеточный белок составлял конкуренцию пивным дрожжам в 70-х и начале 80-х годов, главным образом из-за их дефицита, появление дешевого белка из сои, фасоли и кукурузы в конце 80-х и 90-х годах склонило чашу весов против получения клеточного белка в большинстве стран [176].

1.7 Выводы по главе 1

1. Необходимость решения проблемы острого дефицита белка в мире способствовала разработке новых технологий по его получению. Одной из таких технологий стало производство клеточного белка путем культивирования микроорганизмов. Наиболее активным этапом в развитии подобных технологий стали 60-80-е года 20 века. Одновременно с этим велись активные исследования по изучению кинетики механизмов культивирования для достижения максимальной результативности.

Полученные знания заложили основу для возможности получения клеточного белка и имеют потенциал для актуализации к условиям современного уровня технологического развития. Это позволит восполнить дефицит, образовавшийся на рынке белковых кормопродуктов, а также решить вопрос с использованием углеводсодержащих отходов.

2. Несмотря на высокую пищевую и кормовую ценность клеточного белка, имеется ряд особенностей его применения. В первую очередь, это недопустимость наличия живых клеток микроорганизмов в получаемой продукции, для чего применяется ряд технологических приемов для их инактивации. После

высвобождения клеточного содержимого встает вопрос наличия пептидов в полученной культуральной жидкости, которые ухудшают органолептические характеристики продукции и снижают ее привлекательность для конечного потребителя.

Кроме того, в культуральной жидкости необходимо контролировать концентрацию нуклеиновых кислот, так как их метаболиты в виде оротовой кислоты накапливаются в печени животных или людей, что способствует ее деструкции и развитию серьезных заболеваний.

3. Производство кормпродуктов в России ежегодно растет и на 2022 год составляет более 9,5 млн. т. Из них на комбикорма приходится до 86 %, на корма растительные до 4 %, на концентраты и кормовые смеси до 3 %, премиксы 1 % и прочие корма 6 %. При общем объеме потребления кормпродуктов около 100 млн. т в год кормовая отрасль остается в большей мере импортозависимой отраслью с сильным дефицитом отечественной продукции.

4. Ценность кормов зависит от их химического состава. Основным компонентом, определяющим ценность является протеин, содержание которого в различных кормах составляет до 70 %. Для полноценного рациона питания и нормальной жизнедеятельности и воспроизводства потомства кормпродукты должны содержать витамины А, В, Д, и другие.

5. Для производства кормового белка подходит широкий спектр сырьевых ресурсов. Однако, основным сырьем для его получения является различное углеводсодержащее сырье: меласса, крахмал, молочная сыворотка и другие. Доля сырья в себестоимости, как правило превышает 60 %, что способствует поиску новых видов сырья, например, таких как вторичные сырьевые ресурсы. Замена дорогостоящего углеводсодержащего сырья на ВСР позволит значительно сократить его долю в структуре себестоимости продукции, повысить рентабельность производства и решить проблему утилизации отходов.

6. Основными факторами, определяющими эффективность культивирования являются наличие углеводов и источников азота, фосфора и других элементов. Отсутствие одного из элементов может привести к значительному снижению

продуктивности и, соответственно, к экономическим издержкам. Важным фактором в эффективном культивировании микроорганизмов-аэробов играет кислород. Как правило, используют кислород воздуха, аэрируя питательную среду. Еще одним немаловажным фактором является поддержание определенного уровня pH, который зависит от конкретного вида микроорганизмов.

При создании условий культивирования необходимо учитывать, что подходящим типом метаболизма для лучшего накопления биомассы является окислительный, а рациональным режимом – непрерывный режим с постоянным объемом культуральной жидкости.

Все эти факторы влияют на динамику роста и накопления биомассы. Тонкая настройка параметров позволяет с высокой долей вероятности эффективно проводить процесс культивирования микроорганизмов с получением качественной продукции.

ГЛАВА 2 Исследования культивирования дрожжей-продуцентов кормового белка

2.1 Объекты исследований

В качестве субстратов для проводимых исследований были выбраны ВСП предприятий по глубокой переработке углеводсодержащего сырья, такие как:

- фракция крахмала Б;
- отруби пшеничные;
- зерновая барда;
- фракция пентозанов.

Образцы ВСП были предоставлены ООО «Аминосиб» (г. Ишим Тюменской обл.) - предприятием, которое специализируется на глубокой переработке углеводсодержащего сырья с получением широкого ассортимента продукции: глютен, лизин, этиловый спирт, кормопродукты.

Кроме того, при проведении исследований, выполняемых в рамках гранта Российского научного фонда № 22-16-00159, <https://rscf.ru/project/22-16-00159/>, было принято решение использовать альтернативный источник углеводов – клубни топинамбура, которые являются перспективным сырьем для получения спирта и пищевых волокон с разными качественными характеристиками.

Образцы топинамбура были предоставлены ООО «ИстАгроДон» (г. Данков, Липецкая обл.). Данное предприятие является ведущим по возделыванию и промышленной переработке топинамбура с получением широкого спектра товарной продукции [11, 43, 145].

Краткая характеристика сырья представлена далее.

Фракция крахмала Б

Представляет из себя густую, вязкую суспензию белого или серного цвета, с характерным запахом крахмала. Образуется в больших количествах в процессе глубокой переработки зернового сырья на аминокислоты и крахмал. Данная среда может выступать в качестве вторичного продукта основного производства и подлежит обязательной утилизации или переработке. Крахмал Б характеризуется

высоким содержанием остаточного крахмала (до 25 % масс.) и может выступать в качестве источника углеводов в субстрате при культивировании микроорганизмов-продуцентов кормового белка [16, 56, 78].

Пшеничные отруби

Пшеничные отруби – это сухой, сыпучий продукт, от светло-желтого до темно-коричневого цвета с характерным зерновым запахом. Они являются вторичным продуктом при переработке зерна. Представляют из себя твердую оболочку зерновых ядер, которая образуется в процессе измельчения зерна. Может выпускаться в виде рассыпчатой фракции из мелких чешуек или же в гранулированном виде. Пшеничные отруби богаты пищевыми волокнами, белком, витаминами групп E, B, PP, калием, кальцием, магнием, фосфором, железом и другими микро- и макроэлементами, а также минеральными веществами, что делает целесообразным их применение в процессе получения кормопродукции [74].

Зерновая барда

Жидкость с большим количеством взвешенных частиц и характерным зерновым запахом, от светло-коричневого до темнокоричневого цвета. Образуется в больших количествах при переработке зернового сырья на спирт и в обязательном порядке утилизируется. В сухом виде выступает в качестве самостоятельного кормового продукта, однако в связи с низким содержанием белка ее эффективность недостаточно высока. Может выступать в качестве ВСР благодаря наличию остаточных углеводов, пищевых волокон и дрожжевого белка.

Фракция пентозанов

Представляет собой жидкость серого цвета с небольшим количеством взвешенных частиц, которая образуется при глубокой переработке зернового сырья на стадии фракционирования на клейковину и крахмалы А и Б. В процессе производства образуется достаточно большое ее количество, которое необходимо утилизировать. В составе фракции пентозанов содержится небольшое количество белка и пищевых волокон, что делает их потенциально пригодным сырьем для применения в технологии получения белковых кормопродуктов. Из-за малого содержания углеводов (до 0,2 г/100 см³) их применение наиболее целесообразно в

качестве жидкой фракции для приготовления питательных сред с целью дальнейшего культивирования на них микроорганизмов-продуцентов кормового белка [5, 75].

Топинамбур

Топинамбур (*Heliánthus tuberósus*) является многолетней овощной культурой, который произрастает в широких климатических условиях. Клубни топинамбура богаты пищевыми волокнами и углеводами, которые в основном представлены инулином [45, 90, 91]. Топинамбур достаточно широко возделывается, однако технологии его переработки ограничены. В связи с тем, что топинамбур является сезонной культурой, во время его уборки наблюдается его профицит, и, как правило, достаточно большое количество урожая не успевают переработать из-за ограниченного времени хранения [2]. Это позволяет рассматривать его как альтернативный источник углеводов для получения питательной среды, на основе которой можно производить культивирование микроорганизмов-продуцентов кормового белка. В работе использовали следующие сорта топинамбура: «Интерес», «Скороспелка», «Находка». Данные сорта были выбраны исходя из соображений их высокой урожайности, возможности возделывания в центральной части России и их высоких потребительских свойств [47].

Вспомогательные материалы

Ферментные препараты

На стадии водно-тепловой и ферментативной обработки сырья применяли ряд вспомогательных материалов.

Для гидролиза полисахаридов сырья использовали концентрированные ферментные препараты производства «Novozymes» (Дания):

- Viscoferm - комплексный ферментный препарат, источник ксиланазы, β -глюканызы, целлюлазы и α -амилазы с активностью 900 ед. КС/см³. Способствует снижению вязкости среды;
- Lp-Hera - термостабильная α -амилаза с активностью 1700 ед. АС/см³. Способствует лучшему расщеплению крахмала;
- Saczyme Plus 2X - комплексный ферментный препарат, источник

глюкоамилазы и α -амилазы с активностью 22 000 ед. ГлС/см³. Способствует гидролизу полисахаридов крахмалсодержащего сырья;

- Novozym 960 - источник инулиназы с активностью 300 ед. INU/см³. Способствует гидролизу полисахаридов инулинсодержащего сырья.

Данные ферментные препараты выбраны на основе данных их эффективного применения в отрасли комплексной переработки крахмалсодержащего и углеводсодержащего сырья [50, 54, 79, 84]

Компоненты минерального питания

Для проведения эффективного процесса культивирования микроорганизмов-продуцентов кормового белка необходимо применение минеральных веществ, которые вносили в питательные среды. Это необходимо для улучшения метаболизма дрожжей и позволяет интенсифицировать процесс культивирования, благодаря чему улучшаются качественные и количественные показатели товарной продукции. В качестве минерального питания были использованы соли - источники азота, серы и фосфора.

Карбамид («Уралхим», Россия)

Карбамид или мочевины – $(\text{NH}_2)_2\text{CO}$, применяют в качестве азотсодержащего питательного вещества при культивировании дрожжей. Обычно содержание азота не превышает 46 %. Карбамид представляет собой бесцветное кристаллическое вещество, хорошо растворяется в воде. По степени воздействия на организм человека карбамид относят к умеренно опасным веществам 3-го класса опасности. Предельно допустимая массовая концентрация карбамида в воздухе рабочей зоны составляет 10 мг/м³. Карбамид при нормальных условиях не горюч, пожаро- и взрывобезопасен [61].

Сульфат аммония («Уралхим», Россия)

Сульфат аммония или аммоний сернокислый - $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, применяют в качестве источника азота и источника серы при культивировании кормовых дрожжей. Содержание азота не превышает 21 %, кроме того, служит источником серы (до 24 %). Представляет собой бесцветные прозрачные кристаллы или белый порошок без запаха. Сульфат аммония признан безопасным для человека и

используется в качестве пищевой добавки [76, 92].

Диаммоний фосфат («Уралхим», Россия)

Диаммоний фосфат или гидрофосфат аммония - $(\text{NH}_4)_2\text{HPO}_4$, применяется при культивировании кормовых дрожжей в качестве источника азота и фосфора. Содержит до 18 % азота и до 46 % фосфора. Имеет вид белых кристаллов или гранул белого цвета с желтоватым или серым оттенком, сыпучий, малогигроскопичен [9].

Источники минерального питания применялись как в чистом виде, так и в составе комплексных добавок, содержащих разные количества рассматриваемых солей. Дозировки выбирали исходя из концентрации минеральных веществ в солях, соотнося их с количеством минеральных веществ, необходимым для метаболизма дрожжей.

2.2 Методы исследований

Исследования проводили в лабораторных условиях на базе лаборатории комплексной переработки сырья отдела технологии спирта и комплексной переработки сырья Всероссийского научно-исследовательского института пищевой биотехнологии - филиал Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Федеральный исследовательский центр питания, биотехнологии и безопасности пищи (ВНИИПБТ-филиал ФГБЦН «ФИЦ питания и биотехнологии») (г. Москва), а также в лабораторных и производственных условиях ООО «Этилацетат» (п.г.т. Анна, Воронежская обл.) в соответствии с алгоритмом представленным на Рисунке 12.

В соответствии с приведенным алгоритмом, после анализа ранее разработанных технологий и постановки проблемы исследований был проведен подбор наиболее перспективных штаммов микроорганизмов-продуцентов кормового белка, которые подходят для достижения искомой цели. Параллельно с этим велась работа по получению смеси вторичных сырьевых ресурсов, максимально удовлетворяющих условиям эффективного культивирования микроорганизмов. После получения исходных данных проводили культивирование микроорганизмов-продуцентов кормового белка.



Рисунок 12 – Алгоритм исследования

В соответствии с приведенным алгоритмом, после анализа технологий и постановки проблемы исследований был проведен подбор наиболее перспективных штаммов микроорганизмов-продуцентов кормового белка, которые подходят для достижения искомой цели. Параллельно с этим велась работа по получению композиции смеси вторичных сырьевых ресурсов, максимально удовлетворяющих условиям эффективного культивирования микроорганизмов. После получения исходных данных проводили культивирование микроорганизмов-продуцентов кормового белка.

Разведение чистой культуры дрожжей

Пробирку с чистой культурой, полученную из музея коллекции

микроорганизмов ВНИИПБТ, заливали стерильным зерновым сусликом с концентрацией углеводов 6 % по ареометру-сахарометру и термостатировали при 30-32 °С на протяжении 8 часов, получая I генерацию дрожжей. Затем полученную культуру пересевали в коническую колбу объемом 250 см³, содержащую 100 см³ аналогичного стерильного зернового суслика, и термостатировали в тех же условиях на протяжении 24 часов, получая II генерацию. По истечению 24 часов 5 см³ суспензии дрожжей II генерации переносили в 4 колбы Эрленмейера объемом 750 см³ каждая, содержащие 200 см³ аналогичного стерильного зернового суслика и проводили III генерацию микроорганизмов при непрерывной аэрации на лабораторной качалке в течение 17 часов и соответствующей температуре для конкретной культуры.

Приготовление засевных дрожжей

После получения культуральной жидкости на стерильной среде дрожжи промывали водой не менее трех раз и концентрировали, после чего вносили в n колб Эрленмейера в количестве 10 % к среде.

Культивирование микроорганизмов

Культивирование проводили в n-ом количестве колб Эрленмейера, которые содержали 200 см³ питательной среды, на качалке в течение 17 часов и соответствующей температуре для конкретной культуры. Количество колб Эрленмейера в которых проводили культивирование микроорганизмов определялось дальнейшими этапами исследований.

Сушка

Полученную культуральную жидкость с влажностью 88 – 93 % сушили на лабораторной сушильной установке конвективного типа при температуре 55 - 65 °С. В результате получали товарную продукцию длительного хранения с содержанием влаги не более 10 %.

Водно-тепловую обработку ВСП и клубней топинамбура проводили при помощи водяной бани Экрос 4300М (ООО «Экросхим», Россия) и стерилизатора ГК-100 (АО «ТЗМОИ», Россия) при давлении, достигающем 2 ати и температуре не менее 120 °С

Контроль характеристик ВСП, полупродуктов и продуктов осуществляли при

помощи следующих методик и оборудования:

- массовую долю влаги определяли при помощи термогравиметрического метода с применением автоматического инфракрасного анализатора MA30 (Sartorius, Германия);

- определение массовой концентрации редуцирующих веществ проводили с использованием фотоэлектроколориметрического антронового метода при помощи колориметра КФК-3-ЗОМЗ (Производственное объединение «ЗОМЗ», Россия) [65];

- концентрацию растворимых сухих веществ определяли рефрактометрическим методом при помощи автоматического рефрактометра DR-401 (Bellingham+Stanley Ltd, Великобритания);

- определение сырого протеина и белка по Барнштейну определяли методом Кьельдаля по ГОСТ Р 57221-2016 «Дрожжи кормовые. Методы испытаний» [22];

- состав и концентрацию общих и свободных аминокислот определяли по ГОСТ 32195-2013 «Корма, комбикорма. Метод определения содержания аминокислот» [17] и ГОСТ 32201-2013 «Корма, комбикорма. Метод определения содержания триптофана» [18]. Анализ аминокислотного состава проводили на высокоэффективном жидкостном хроматографе KNAUER (Германия) с ультрафиолетовым детектором с длиной волны 570 нм;

- содержание витаминов определяли в экстрактах методом высокоэффективной жидкостной хроматографии на жидкостном хроматографе Dionex Ultimate 3000 с детектором MWD-3000 с рефрактометрическим датчиком производства "Thermo Fisher Scientific" (США) в ультрафиолетовой области спектра с заданной длиной волны по ГОСТ EN 14122—2013 Продукты пищевые. Определение витаминов методом высокоэффективной жидкостной хроматографии [20] в соответствии с AOAC Official Method 970.65 Riboflavin (Vitamin B2) in Foods and Vitamine preparation [97], ГОСТ EN 14164—2014 Продукты пищевые [13] и Р 4.1.1672-03 Руководство по методам контроля качества и безопасности биологически активных добавок к пище [70];

- морфологические характеристики и титр дрожжевых клеток определяли в счетной камере Горяева при помощи светового микроскопа со степенью увеличения

400×;

- определение сырой золы проводили методом озоления по ГОСТ 32933-2014 (ISO 5984:2002) Корма, комбикорма. Метод определения содержания сырой золы [19];

- содержание жира определяли экстракцией жира с последующим гравиметрическим определением разности массы навески до и после экстракции по ГОСТ ISO 734-1-2016 Жмыхи и шроты. Определение содержания сырого жира [21];

- определение величины pH осуществляли при помощи автоматического pH-метра SevenEasy pH с потенциометрическим детектором InLab Expert Pro pH (Mettler-Toledo GmbH, Швейцария);

- титруемую кислотность определяли методом прямого титрования 0,1 N раствором NaOH в присутствии метиленового красного.

При статистической обработке экспериментальных данных рассчитывали среднее арифметическое значение определяемой величины из 3–6-кратной повторности и их среднеквадратичное отклонение. Статистическую значимость различий определяли методом однофакторного дисперсионного анализа с апостериорным критерием Тьюки при $p < 0,05$ с использованием программы Statistica 10.

2.3 Исследование характеристик сырья

Основным компонентом питательной среды являются углеводы, которые в процессе аэробного культивирования ассимилируются дрожжами с накоплением биомассы. Кроме того, питательная среда должна обладать рядом технологических свойств, таких как текучесть, вязкость, которые будут удовлетворять требованиям эффективного энерго- и массообмена.

Для проведения исследований по подбору питательной среды с завода по глубокой переработке зерна пшеницы ООО «Аминосиб» (г. Ишим Тюменкой обл.) были получены следующие образцы ВСР:

- фракция крахмала Б;

- отруби пшеничные;
- зерновая барда;
- фракция пентозанов.

Проведены исследования химического состава указанных ВСР. Результаты исследования представлены в Таблице 8.

Таблица 8 – Качественные показатели ВСР

Показатель	Крахмал Б	Пентозаны	Отруби	Зерновая барда
Содержание сухих веществ				
- общие, %	31,70±0,20	2,50±0,10	86,80±0,40	6,50±0,20
- растворимые, %	6,20±0,20	1,95±0,09	отсутствует ^а	5,70±0,10
- взвешенные, %	25,50±0,10	0,55±0,05	отсутствует ^а	0,80±0,10
Массовая доля сырого протеина, % на а.с.в.	9,4±0,1	27,4±0,4	16,0±0,4	21,1±0,2
Массовая доля белка по Барнштейну, % на а.с.в.	9,3±0,1	21,3±0,1	15,6±0,4	20,5±0,2
Общие редуцирующие вещества, г/100 см ³	23,5±0,2	0,9±0,1	22,8±0,1	0,3±0,1
рН	4,45±0,25	6,50±0,31	отсутствует ^а	4,10±0,29
Титруемая кислотность, град.	0,2±0,1	отсутствует ^б	отсутствует ^а	0,5±0,1

^аотсутствие показателя связано с тем, что отруби являются сухим продуктом

^ботсутствие показателя связано с щелочной природой среды

С предприятия по комплексной переработке топинамбура ООО «ИстАгороДон» (г. Данков, Липецкая обл.) были получены образцы клубней топинамбура следующих сортов:

- Интерес;
- Скороспелка;
- Находка.

Данные сорта топинамбура были выбраны из-за высокого содержания углеводов в клубнях, представленных в основном инулином. Клубни данных сортов имеют правильную форму, что позволяет снизить их повреждения при

транспортировке, тем самым уменьшив вероятность развития посторонней микрофлоры. Также данные сорта активно возделываются в центральной части России. Данные факторы позволяют снизить эксплуатационные и логистические затраты и увеличить эффективность производства [2, 43, 47].

Проведены исследования химического состава топинамбура. Результаты представлены в Таблице 9.

Таблица 9 – Качественные показатели клубней топинамбура

Показатели	Сорт топинамбура		
	Интерес	Скороспелка	Находка
Массовая доля сухих веществ, %	23,37±0,21	23,68±0,17	24,10±0,18
Общие редуцирующие вещества, г/100 см ³	16,40±0,1	16,00±0,2	16,80±0,1
Сырой протеин, % на а.с.в.	3,94±0,09	4,08±0,11	4,35±0,13
Белок по Барнштейну, % на а.с.в.	3,02±0,08	3,92±0,09	4,11±0,08
Зола, % на а.с.в.	7,29±0,10	7,41±0,12	7,59±0,12
Сырая клетчатка, % на а.с.в.	18,19±0,21	18,58±0,17	19,17±0,24
Содержание жира, % на а.с.в.	0,66±0,05	0,45±0,04	0,72±0,04

Результаты анализа показывают, что не все компоненты в натуральном виде удовлетворяют необходимым требованиям для проведения эффективного процесса культивирования микроорганизмов-продуцентов кормового белка. Так, во фракции крахмала Б количество углеводов (23,5 %), значительно превышает подходящую величину, необходимую для культивирования микроорганизмов продуцентов кормового белка. Кроме того, из-за содержания сухих веществ до 32 % фракция крахмала Б имеет высокий показатель вязкости, что потенциально снижает возможность его эффективной аэрации и транспортировки между производственными процессами. Фракция пентозанов и зерновая барда, наоборот, обладают высокими текучестью и содержанием белка (27,4 и 21,1 %

соответственно), однако содержат недостаточно углеводов (0,9 и 0,3 % соответственно), что не может способствовать высокой эффективности культивирования микроорганизмов-продуцентов кормового белка. Отруби содержат достаточно высокое количество углеводов (22,8 %) и белка (16,0 %), однако являются сухим продуктом, что делает их непригодными для использования в натуральном виде при культивировании микроорганизмов-продуцентов кормового белка.

Топинамбур всех сортов является отличным источником углеводов (до 16,8 %), однако содержит малое количество белка (до 4,35 %). Клубни топинамбура являются сочным корнеплодом и содержание сухих веществ в нем редко превышает 25 %, что не позволяет использовать топинамбур в чистом виде в качестве субстрата для культивирования микроорганизмов-продуцентов кормового белка. Кроме того, высокая вязкость данного компонента также препятствует его использованию в натуральном виде [45, 47].

Результаты анализа химического состава исследуемых субстратов свидетельствуют о том, что использование не всех представленных компонентов в натуральном виде целесообразно для культивирования микроорганизмов-продуцентов кормового белка. В то же время существует возможность подбора их композиций, в которых будут нивелированы частные недостатки каждого вида сырья, благодаря чему можно получить питательную среду с подходящими свойствами.

2.4 Разработка состава питательной среды и определение рационального режима водно-тепловой и ферментативной обработки для ее получения

На основании анализа данных, полученных в ходе исследования биохимического состава сырья, были разработаны варианты составов питательных сред, потенциально удовлетворяющие требованиям для культивирования микроорганизмов-продуцентов кормового белка:

Среда 1 – 100 % фракции пентозанов;

Среда 2 – 20 % фракции крахмала Б + 80 % фракции пентозанов;

Среда 3 – 10 % отрубей пшеничных + 90 % фракции пентозанов;

Среда 4 – 100 % зерновой барды;

Среда 5 – 80 % зерновой барды + 20 % фракции крахмала Б;

Среда 6 – 40 % измельченных клубней топинамбура + 60 % фракции пентозанов.

Выбор соотношений компонентов сред обоснован необходимостью создания технологичной питательной среды с содержанием растворимых сухих веществ (СВ) не более 7 %. Экспериментально установлено, что дальнейшее повышение концентрации растворимых СВ в питательной среде приводит к угнетению клеток микроорганизмов в связи с критическим повышением осмотического давления. Увеличение концентрации усвояемых углеводов смещает метаболизм микроорганизмов в сторону анаэробного дыхания с образованием этилового спирта [40].

Культивирование дрожжей на средах с пониженной концентрацией растворимых СВ приводит к дефициту углеводов в среде и снижению эффективности культивирования с уменьшением выхода биомассы, что экономически не оправдано с учетом дальнейшей переработки культуральной жидкости в сухие протеиновые кормопродукты.

Перед началом культивирования, для обеспечения эффективной ассимиляции углеводов микроорганизмами, был проведен гидролиз полисахаридов исследуемых субстратов. С целью выбора рационального режима водно-тепловой и ферментативной обработки сред исследовано 2 схемы:

1. Тепловая обработка под давлением с повышенной температурой или «Жесткая» схема. Данная схема предполагает двухстадийное последовательное нагревание замеса до 40 ± 1 °С с выдерживанием в течение 40 минут и последующим нагреванием замеса до 120 ± 2 °С под давлением 2 ати с выдерживанием в течение 90 минут.

2. Тепловая обработка по механико-ферментативной или «Мягкой» схеме. Данная схема предполагает двухстадийное последовательное нагревание замеса в

присутствии ферментных препаратов амилолитического действия до 70 ± 1 °С с выдерживанием в течение 40 минут и последующим нагреванием замеса до температуры 90 ± 2 °С с выдерживанием в течение 140 минут [41].

После тепловой обработки для всех вариантов сред проводили ферментативный гидролиз полисахаридов сырья в течение 60 минут при температуре 58 ± 1 °С.

В ходе проведения экспериментальных исследований подобран мультиэнзимный комплекс, включающий:

Для сред 1-5:

- Viscoferm в дозировке 0,25 ед. КС/г сухих веществ;
- Lp-Hera в дозировке 4,5 ед АС/г крахмала сырья;
- Saczyme Plus 2X в дозировке 9 ед ГЛС/г крахмала сырья;

Для среды 6

- Viscoferm в дозировке 0,25 ед. КС/г сухих веществ;
- Novozym 960 в дозировке 0,5 ед INU/г. сухих веществ.

Параметры сред после ВТФО по «жесткой» схеме приведены в Таблице 10, а по механико-ферментативной схеме в Таблице 11.

Результаты исследования показывают, что применение «жесткой» схемы разваривания не имеет существенных преимуществ перед «мягкой». Основные контролируемые параметры находятся в близком диапазоне. Концентрация редуцирующих веществ при использовании «жесткой» схемы разваривания несколько ниже, чем при использовании механико-ферментативной схемы. Это связано с тем, что при обработке сырья при высоких температурах (до 120 °С), в среде происходят процессы карамелизации сахаров (меланоидинообразование), что влечет за собой потери потенциально сбраживаемых углеводов.

Таблица 10 – Технологические показатели питательных сред после применения «жесткой» схемы разваривания

Показатель	Среда 1	Среда 2	Среда 3	Среда 4	Среда 5	Среда 6
Концентрация СВ (факт.), %:						
-общие	2,3±0,2	8,4±0,2 ^a	10,3±0,1 ^b	6,6±0,1	8,2±0,3 ^a	10,7±0,3 ^b
-растворимые	2,1±0,1	7,0±0,2 ^c	2,7±0,2	5,2±0,1	6,9±0,3 ^c	8,7±0,2
-взвешенные	0,2±0,1	1,4±0,1	7,6±0,3	1,4±0,2	1,3±0,1	2,0±0,1
Редуцирующие вещества, г/100 см ³	0,97±0,12	5,32±0,34 ^{de}	1,66±0,12	0,54±0,12	4,98±0,11 ^d	5,36±0,11 ^e
Нераств. крахмал, г/100 см ³	0 ^f	0 ^f	0 ^f	0 ^f	0 ^f	0 ^f
pH	4,8±0,2 ^g	5,1±0,1 ^g	5,3±0,4 ^g	5,0±0,4 ^g	5,1±0,3 ^g	5,0±0,3 ^g
Массовая доля белка по Барнштейну:						
-% на асв	20,12±0,13	21,42±0,16	14,63±0,19	19,12±0,13	21,07±0,21	13,26±0,09
-г/100 г	0,46±0,10	1,80±0,11 ^h	1,50±0,12 ⁱ	1,27±0,12	1,73±0,14 ^h	1,42±0,11 ⁱ

*Значения, обозначенные одинаковыми буквенными индексами, статистически не различимы, при уровне значимости $p < 0,05$.

Таблица 11 – Технологические показатели питательных сред после применения «мягкой» схемы разваривания

Показатель	Среда 1	Среда 2	Среда 3	Среда 4	Среда 5	Среда 6
Концентрация СВ (факт.), %:						
-общие	2,5±0,1	8,3±0,3 ^a	10,8±0,2 ^b	6,5±0,2	8,3±0,1 ^a	11,0±0,1 ^b
-растворимые	2,0±0,1	6,7±0,1 ^c	2,5±0,1	5,6±0,2	6,8±0,2 ^c	7,7±0,1
-взвешенные	0,1±0,1	1,0±0,1	8,1±0,2	0,8±0,1	1,2±0,1	3,1±0,1
Редуцирующие вещества, г/100 см ³	1,05±0,14	5,50±0,26 ^d	1,89±0,09	0,55±0,11	5,15±0,18 ^d	5,47±0,16 ^d
Нераств. крахмал, г/100 см ³	0 ^e	0 ^e	0 ^e	0 ^e	0 ^e	0 ^e
pH	5,10±0,3 ^f	5,24±0,2 ^f	5,59±0,4 ^f	5,00±0,3 ^f	5,20±0,2 ^f	5,16±0,2 ^f
Массовая доля белка по Барнштейну:						
-% на асв	21,30±0,11 ^g	20,70±0,12	15,80±0,22	21,11±0,11 ^g	19,10±0,14	14,11±0,12
-г/100 г	0,49±0,12	0,89±0,14 ^h	1,66±0,21 ⁱ	0,72±0,16 ^h	0,75±0,17 ^h	1,54±0,09 ⁱ

*Значения, обозначенные одинаковыми буквенными индексами, статистически неразличимы при уровне значимости $p < 0,05$

Данные процессы снижают эффективность биокаталитических процессов и

приводят к снижению выхода целевой продукции, а также ее качества. В дополнение, стоит отметить, что «жесткая» схема водно-тепловой и ферментативной обработки является более энергоемкой и сложной с точки зрения аппаратного оформления.

В связи с этим дальнейшие исследования проводились с применением механико-ферментативной схемы водно-тепловой и ферментативной обработки, а от схемы разваривания под давлением было принято решение отказаться.

Механико-ферментативная схема является более гибкой с точки зрения применения различного вида сырьевых ресурсов и ферментных препаратов, что делает ее более предпочтительной для достижения поставленных задач.

2.5 Выбор микроорганизмов-продуцентов кормового белка

В ходе анализа литературных источников был рассмотрен спектр известных штаммов-продуцентов кормового белка, применяемых в промышленности [4, 7, 40, 52, 62, 73, 83, 87]. В результате были выбраны наиболее перспективные виды дрожжей, которые удовлетворяют целям исследований: *Saccharomyces cerevisiae* RCAM 01137 и Y-3585, *Rhodospiridium diobovatum* Rh. d-1 RCAM 01131, *Candida tropicalis* СК-4. Данные штаммы отличаются высокой степенью ассимиляции углеводов сырья и других питательных веществ, мягкими условиями культивирования, биосинтетической способностью по отношению к белку. Образцы чистых культур штаммов-продуцентов кормового белка были получены из музея микроорганизмов ВНИИПБТ, где с ними регулярно проводятся работы по сохранности, скринингу и селекции. Чистые культуры штаммов поддерживались на сусле-агаре и перед культивированием с каждым образцом проводились тестовые испытания по оценке его состояния путем высева на стерильные питательные среды. По результатам предварительных анализов была подтверждена идентичность и чистота каждого применяемого штамма.

Характеристики всех выбранных штаммов представлены далее.

***Saccharomyces cerevisiae* RCAM 01137**

Клетки овальные или круглые, иногда удлинённые, размером $(6,0 \div 8,0) \times (11,0 \div 13,0)$ мкм.

Размножается многосторонним почкованием. Почкование истинное. Может формировать примитивный псевдомицелий, но истинного мицелия не образует.

Дрожжи рода *Saccharomyces* активно сбраживают сахара, нитраты не ассимилируют, т.к. не имеют ферментов, способных восстанавливать их до ионов аммония. Внешний вид образца дрожжей вида *S. cerevisiae* RCAM 01137 в пробирке на сусле-агаре представлен на Рисунке 13.



Рисунок 13 – Внешний вид *S. cerevisiae* RCAM 01137.

Способны сбраживать глюкозу, галактозу, сахарозу, лактозу, мальтозу, частично раффинозу (на 1/3), декстрины.

Усваивают уксусную и молочную кислоты, не усваивают янтарную, яблочную, винную лимонную кислоты.

Оптимальная температура роста от 30 до 33 °С, рН от 4,5 до 5,5.

Срок годности культуры дрожжей – 2 мес., считая от даты посева.

Температура хранения пробирки с культурой дрожжей от 5 до 10 °С, периодичность пересева 5÷6 недель [164].

***Saccharomyces cerevisiae* Y-3585**

Клетки овальные или круглые, иногда удлинённые, размером $(5,0 \div 7,0) \times (10,0 \div 13,0)$ мкм.

Размножается многосторонним почкованием. Почкование истинное. Может формировать примитивный псевдомицелий, но истинного мицелия не образует.

Дрожжи рода *Saccharomyces* активно сбраживают сахара, нитраты не ассимилируют, т.к. не имеют ферментов, способных восстанавливать их до ионов

аммония. Внешний вид образца дрожжей вид *S. cerevisiae* Y-3585 в пробирке на сусле-агаре представлен на Рисунке 14.



Рисунок 14 – Внешний вид *S. cerevisiae* Y-3585.

Способны сбраживать глюкозу, галактозу, лактозу, мальтозу, раффинозу, простые декстрины.

Усваивают уксусную и молочную кислоты, не усваивают янтарную, яблочную, винную лимонную кислоты.

Оптимальная температура роста от 30 до 32 °С, рН от 5,0 до 5,5.

Срок годности культуры дрожжей – 2 мес., считая от даты посева.

Температура хранения пробирки с культурой дрожжей от 5 до 10 °С, периодичность пересева 5÷6 недель [64].

***Rhodosporidium diobovatum* Rh. d-1 RCAM 01131**

Клетки от овальных до сильно вытянутых размером (1,0÷6,0) × (2,0÷9,0) мкм. Часто встречается псевдомицелий. На агаризованной среде колонии ярко оранжевого цвета с шероховатой поверхностью и неровным краем.

Внешний вид образца дрожжей вид *R. diobovatum* Rh. d-1 RCAM 01131 в пробирке на сусле-агаре представлен на Рисунке 15.



Рисунок 15 – Внешний вид *R. diobovatum* Rh. d-1 RCAM 01131

Ассимилирует галактозу, сахарозу, мальтозу, целлобиозу, трегалозу, раффинозу, янтарную кислоту, лимонную кислоту.

Не ассимилирует: лактозу, мелибиозу.

Штамм способен продуцировать каротиноиды, в том числе β -каротин.

Оптимальная температура роста от 35 до 37 °С, рН от 5,0 до 5,5.

Срок хранения штамма при периодическом пересеве – 2 мес., периодичность пересева 5-6 недель, считая от даты посева. Температура хранения пробирки с культурой дрожжей от 5 до 10 °С, периодичность пересева 5÷6 недель [37].

***Candida tropicalis* СК-4**

Род дрожжей *Candida* относится к подсемейству *Candidoideae* семейства *Cryptococcaceae*. Все дрожжи рода *Candida* размножаются путем многостороннего почкования и не образуют спор. Вегетативные клетки при почковании часто не отделяются, образуя характерные мутовки. Величина клеток $(12,8\div 10,24) \times (8,0\div 7,0)$ мкм.

Внешний вид образца дрожжей вид *C. tropicalis* СК-4 в пробирке на сусле-агаре представлен на Рисунке 16.



Рисунок 16 - Внешний вид *C. tropicalis* СК-4.

Ассимилируют глюкозу, сахарозу, мальтозу, галактозу, маннозу, ксилозу, маннит, глицерин, спирты, уксусную, янтарную, фумаровую и яблочную кислоты.

Оптимальная температура роста от 36 до 38 °С, рН от 4,5 до 5,5.

Не ассимилируют дульцит, винную, лимонную и щавелевую кислоты.

Срок годности культуры дрожжей – 2 мес., считая от даты посева.

Температура хранения пробирки с культурой дрожжей от 5 до 10 °С, периодичность пересева 5÷6 недель [60].

2.6 Исследование по оптимизации минерального питания

В качестве минерального питания было принято решение использовать наиболее широко используемые в промышленном масштабе источники азота и фосфора: карбамид, сульфат аммония и диаммоний фосфат. Дозировки, которые использовались в проведении исследований, представлены в Таблице 12. Данные дозировки выбраны исходя из количественного содержания элементов в конкретной соли, а так же с учетом их роли и потребности в них дрожжей при ведении метаболических процессов, протекающих в ходе культивирования [73].

Таблица 12 – Варианты применяемого минерального питания

Вариант	Минеральное питание	Дозировка, % к объему субстрата
1	Карбамид	0,3
2		0,6
3		0,9
4	Сульфат аммония	0,5
5		1,0
6		1,5
7	Карбамид + диаммоний фосфат	0,1+0,03
8		0,2+0,06
9		0,3+0,09

Об эффективности применения минерального питания судили по увеличению титра клеток в процессе культивирования (Таблица 13). Начальный титр клеток дрожжей составлял не менее 100 млн/см³. Кроме того определяли морфологические характеристики клеток, содержание белка по Барнштейну (Таблица 14) и сырого протеина (Таблица 15), так как именно эти показатели являются основополагающими в процессе культивирования и оказывают существенное влияние на экономику процесса.

Полученные данные свидетельствуют, что минимальная дозировка минерального питания способствует увеличению количества клеток, как минимум в 7 раз относительно количества клеток «засевной» культуры.

Таблица 13 – Влияние минерального питания на титр клеток дрожжей

Дрожжи	Питание	Количество клеток дрожжей, млн/см ³					
		Среда 1	Среда 2	Среда 3	Среда 4	Среда 5	Среда 6
<i>S. cerevisiae</i> RCAM 01137	1	433±10	702±15	516±13	614±18	667±21	627±17
	2	620±11	793±7	614±10	712±12	781±14	716±21
	3	671±19	833±16	669±14	721±22	802±11	744±26
	4	421±12	681±18	499±18	589±21	649±18	594±13
	5	619±17	807±10	628±16	731±16	776±15	711±12
	6	701±14	955±15	754±17	784±18	928±14	854±19
	7	452±15	719±17	545±19	652±19	688±14	633±10
	8	631±16	813±10	657±24	733±13	779±22	721±17
	9	702±14	899±14	724±18	804±22	867±16	811±14
<i>S. cerevisiae</i> Y-3585	1	431±12	698±23	513±16	611±23	664±9	624±18
	2	618±16	789±12	610±10	710±11	778±21	712±16
	3	668±21	828±17	666±14	717±12	798±13	739±21
	4	418±18	678±21	497±8	586±15	646±18	591±19
	5	616±11	803±19	624±15	727±13	772±18	707±13
	6	697±8	949±16	750±21	780±20	922±10	850±18
	7	450±10	715±12	542±13	649±21	685±116	630±16
	8	628±16	810±11	654±18	730±18	775±8	717±14
	9	699±24	895±17	720±12	800±11	863±13	807±12
<i>R. diobovatum</i> Rh. d-1 RCAM 01131	1	446±7	720±15	530±23	632±12	687±18	646±20
	2	640±13	825±12	632±16	735±18	805±21	736±13
	3	691±22	859±21	689±21	743±16	826±17	766±17
	4	435±14	703±14	514±19	607±21	668±19	612±11
	5	638±12	828±11	647±24	752±9	801±10	732±10
	6	722±11	979±16	777±16	808±12	956±11	880±16
	7	464±15	740±15	561±12	672±17	709±14	652±13
	8	650±10	834±12	675±9	756±13	802±8	741±21
	9	722±23	916±19	746±17	828±11	892±12	835±24
<i>C. tropicalis</i> СК-4	1	438±22	710±10	522±12	621±10	675±17	635±17
	2	627±11	803±17	621±17	721±19	790±11	725±20
	3	679±14	843±12	677±11	730±22	812±21	753±7
	4	426±18	689±17	505±20	596±15	657±7	601±14
	5	626±16	817±9	636±7	740±18	785±17	720±21
	6	709±14	966±13	763±16	793±12	939±22	864±15
	7	457±12	728±15	552±23	660±16	696±13	641±7
	8	639±19	823±7	665±19	742±21	788±14	730±14
	9	710±21	910±16	733±14	814±16	877±12	821±21

Таблица 14 – Влияние минерального питания на содержание белка по Барнштейну в культуральной жидкости

Дрожжи	Питание	Белок по Барнштейну, % на а.с.в.					
		Среда 1	Среда 2	Среда 3	Среда 4	Среда 5	Среда 6
<i>S. cerevisiae</i> RCAM 01137	1	23,1±0,2	29,5±0,3	15,7±0,3	23,5±0,3	27,4±0,3	23,1±0,1
	2	25,8±0,3	31,6±0,3	17,7±0,3	26,3±0,1	29,7±0,2	26,0±0,2
	3	26,1±0,2	31,0±0,2	18,3±0,2	26,8±0,2	30,2±0,3	26,3±0,1
	4	21,0±0,1	27,8±0,3	16,1±0,1	21,3±0,2	26,2±0,1	17,6±0,
	5	22,7±0,3	28,8±0,3	18,6±0,3	22,8±0,3	27,9±0,3	23,6±0,3
	6	23,0±0,2	28,7±0,2	19,0±0,3	23,3±0,2	28,4±0,2	23,9±0,2
	7	23,8±0,1	30,2±0,3	16,5±0,3	20,2±0,1	28,4±0,1	15,4±0,1
	8	32,4±0,3	36,5±0,3	20,3±0,2	27,5±0,2	34,6±0,3	21,2±0,2
	9	29,2±0,2	36,7±0,2	18,7±0,3	26,1±0,3	35,4±0,2	21,6±0,2
<i>S. cerevisiae</i> Y-3585	1	20,3±0,2	25,9±0,3	13,8±0,3	20,6±0,1	24,1±0,3	20,3±0,3
	2	22,6±0,3	27,8±0,3	15,5±0,1	23,1±0,3	26,1±0,1	22,9±0,1
	3	23,0±0,3	27,3±0,2	16,1±0,2	23,5±0,2	26,6±0,2	23,1±0,3
	4	18,5±0,1	24,5±0,2	14,2±0,3	18,7±0,3	23,0±0,3	15,4±0,2
	5	19,9±0,3	25,4±0,3	16,3±0,3	20,1±0,1	24,6±0,2	20,7±0,1
	6	20,2±0,2	25,2±0,3	16,7±0,2	20,5±0,2	25,0±0,3	21,0±0,2
	7	21,0±0,3	26,6±0,2	14,5±0,2	17,8±0,3	25,0±0,3	13,5±0,3
	8	25,3±0,3	32,6±0,3	16,2±0,3	22,5±0,1	30,9±0,1	18,7±0,2
	9	25,7±0,1	33,1±0,3	16,5±0,3	23,0±0,2	31,1±0,2	19,0±0,1
<i>R. diobovatum</i> Rh. d-1 RCAM 01131	1	25,4±0,3	32,4±0,2	17,3±0,2	25,8±0,3	30,1±0,3	25,4±0,3
	2	28,3±0,3	34,7±0,1	19,4±0,1	28,9±0,2	32,6±0,3	28,6±0,2
	3	28,7±0,2	34,1±0,1	20,1±0,3	29,4±0,3	33,2±0,1	28,9±0,2
	4	23,1±0,3	30,6±0,4	17,7±0,2	23,4±0,2	28,8±0,2	19,3±0,1
	5	24,9±0,1	31,7±0,2	20,4±0,3	25,1±0,3	30,7±0,3	25,9±0,3
	6	25,3±0,2	31,5±0,3	20,9±0,2	25,6±0,1	31,2±0,2	26,3±0,2
	7	26,2±0,3	33,2±0,3	18,1±0,1	22,2±0,2	31,2±0,1	16,9±0,3
	8	31,6±0,2	40,8±0,3	20,3±0,3	28,1±0,3	38,6±0,3	23,4±0,2
	9	32,1±0,3	41,4±0,1	20,6±0,3	28,7±0,2	38,9±0,2	23,7±0,1
<i>C. tropicalis</i> СК-4	1	22,1±0,1	28,2±0,3	15,1±0,2	22,4±0,1	26,2±0,1	22,1±0,3
	2	24,6±0,1	30,2±0,3	16,9±0,3	25,1±0,3	28,4±0,3	24,9±0,2
	3	25,0±0,3	29,7±0,2	17,5±0,3	25,6±0,3	28,9±0,2	25,1±0,2
	4	20,1±0,2	26,6±0,3	15,4±0,1	20,4±0,2	25,1±0,1	16,8±0,3
	5	21,7±0,3	27,6±0,2	17,7±0,2	21,8±0,3	26,7±0,3	22,5±0,2
	6	22,0±0,3	27,4±0,2	18,2±0,3	22,3±0,2	27,1±0,2	22,9±0,1
	7	22,8±0,1	28,9±0,3	15,7±0,3	19,3±0,1	27,1±0,3	14,7±0,3
	8	27,0±0,3	35,4±0,1	19,8±0,2	28,5±0,3	38,3±0,1	22,5±0,2
	9	27,9±0,2	36,0±0,3	17,9±0,3	25,0±0,2	33,8±0,2	20,6±0,1

Таблица 15 – Влияние минерального питания на содержание сырого протеина в культуральной жидкости

Дрожжи	Питание	Сырой протеин, % а.с.в.					
		Среда 1	Среда 2	Среда 3	Среда 4	Среда 5	Среда 6
<i>S. cerevisiae</i> RCAM 01137	1	30,3±0,1	38,6±0,3	20,6±0,2	30,8±0,3	35,9±0,2	30,3±0,3
	2	33,7±0,2	41,4±0,3	23,1±0,1	34,5±0,2	38,9±0,3	34,1±0,2
	3	34,2±0,1	40,7±0,1	24,0±0,3	35,0±0,1	39,6±0,1	34,5±0,1
	4	27,5±0,2	36,5±0,2	21,1±0,3	27,9±0,2	34,3±0,2	23,0±0,1
	5	29,7±0,3	37,8±0,3	24,3±0,3	29,9±0,3	36,6±0,3	30,9±0,3
	6	30,2±0,1	37,6±0,1	24,9±0,2	30,5±0,2	37,2±0,3	31,4±0,2
	7	31,2±0,2	39,6±0,2	21,6±0,1	26,5±0,1	37,2±0,1	20,1±0,1
	8	42,4±0,3	48,1±0,3	26,6±0,3	36,0±0,3	45,3±0,3	27,8±0,2
	9	38,3±0,1	48,4±0,1	24,6±0,2	34,2±0,2	46,4±0,2	28,3±0,3
<i>S. cerevisiae</i> Y-3585	1	26,6±0,2	34,0±0,3	18,1±0,1	27,0±0,1	31,5±0,3	26,6±0,1
	2	29,7±0,3	36,4±0,2	20,3±0,2	30,3±0,2	34,2±0,1	30,0±0,3
	3	30,1±0,1	35,7±0,1	21,1±0,3	30,8±0,3	34,8±0,2	30,3±0,2
	4	24,2±0,3	32,1±0,3	18,5±0,3	24,5±0,1	30,2±0,3	20,2±0,2
	5	26,1±0,3	33,2±0,3	21,4±0,1	26,3±0,3	32,2±0,1	27,1±0,3
	6	26,5±0,1	33,0±0,2	21,9±0,2	26,8±0,2	32,7±0,2	27,6±0,1
	7	27,5±0,2	34,8±0,1	19,0±0,3	23,3±0,3	32,7±0,1	17,7±0,3
	8	33,1±0,2	42,8±0,3	21,3±0,3	29,4±0,1	40,5±0,3	24,5±0,1
	9	33,6±0,3	43,4±0,1	21,6±0,1	30,1±0,1	40,8±0,3	24,8±0,2
<i>R. diobovatum</i> Rh. d-1 RCAM 01131	1	33,3±0,1	40,6±0,2	22,7±0,2	33,8±0,2	39,4±0,2	33,3±0,1
	2	37,1±0,2	44,0±0,2	25,4±0,2	37,9±0,3	42,7±0,2	37,5±0,3
	3	37,6±0,1	46,1±0,3	26,3±0,3	38,5±0,3	43,5±0,1	37,9±0,3
	4	30,3±0,3	36,2±0,2	23,2±0,1	30,7±0,1	37,7±0,1	25,3±0,2
	5	32,6±0,2	40,6±0,3	26,7±0,3	32,9±0,3	40,2±0,3	33,9±0,1
	6	33,1±0,2	43,1±0,1	27,4±0,2	33,5±0,3	40,9±0,3	34,5±0,3
	7	34,3±0,1	41,4±0,2	23,7±0,3	29,1±0,2	40,9±0,2	22,1±0,1
	8	41,4±0,3	50,0±0,2	26,6±0,1	36,8±0,2	50,6±0,1	30,7±0,2
	9	42,1±0,3	54,8±0,1	27,0±0,2	37,6±0,3	51,0±0,3	31,0±0,1
<i>C. tropicalis</i> СК-4	1	28,9±0,1	36,9±0,2	19,7±0,2	29,4±0,1	34,3±0,2	28,9±0,2
	2	32,3±0,2	39,5±0,1	22,1±0,3	32,9±0,2	37,2±0,1	32,6±0,3
	3	32,7±0,1	38,9±0,3	22,9±0,1	33,5±0,3	37,8±0,3	32,9±0,1
	4	26,3±0,3	34,9±0,1	20,2±0,3	26,7±0,1	32,8±0,1	22,0±0,3
	5	28,4±0,1	36,1±0,2	23,2±0,1	28,6±0,3	35,0±0,3	29,5±0,2
	6	28,8±0,2	35,9±0,2	23,8±0,3	29,2±0,2	35,6±0,3	30,0±0,1
	7	29,9±0,3	37,8±0,1	20,6±0,1	25,3±0,2	35,6±0,2	19,3±0,1
	8	35,4±0,2	46,4±0,3	25,9±0,2	37,3±0,1	50,2±0,2	29,5±0,1
	9	36,6±0,1	47,2±0,1	23,5±0,3	32,7±0,1	44,3±0,1	27,0±0,3

Максимальный прирост наблюдался в образце, где было внесено 1,5 % сульфата аммония. Тем не менее, высокая концентрация клеточной биомассы не гарантировала высокого содержания белка. Визуально клетки в данном случае были более мелкие по сравнению с другими вариантами, что свидетельствует о том, что накопление клеток происходило количественно, а не качественно. Наилучший результат был достигнут в варианте с применением комплексного минерального питания, который содержал 0,2 % карбамида и 0,06 % диаммоний фосфата (8 вариант в таблицах 13-15).

На микрофотографии (Рисунок 17) приведен внешний вид клеток культуры *R. diobovatum Rh. d-1 RCAM 01131*, которая была культивирована на среде 2, с применением 8 комплекса минерального питания. Хорошо видно, что в данном случае большинство клеток крупные (до 15 мкм), преимущественно овальной формы, количество почкующихся клеток - около 10 %.

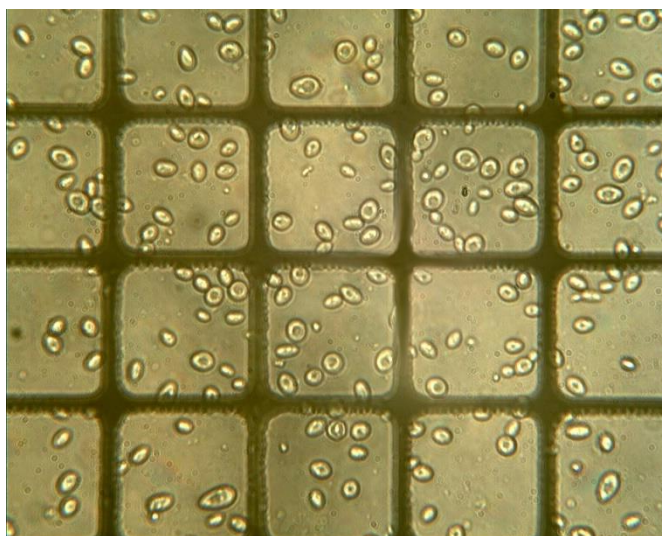


Рисунок 17 – Микрофотография культуры *R. diobovatum Rh. d-1 RCAM 01131*

Дальнейшее увеличение дозировки не способствовало значительному приросту белка по Барнштейну, но завышало показатель сырого протеина, что свидетельствует о избытке минерального питания, которое микроорганизмы не в состоянии усвоить. Кроме того, из-за избытка солей увеличивается концентрация свободного азота в продукте, что повышает уровень сырого протеина, снижает

реальную питательную ценность корма за счет присутствия неусвояемого азота и может негативно влиять на потребителя подобной кормопродукции [58].

На Рисунке 18 приведена зависимость содержания белка по Барнштейну и сырого протеина от титра клеток дрожжей для всех используемых культур, культивировавшихся в среде 2 и варианту композиции минерального питания, который показал высокую результативность. Из диаграммы видно, что при увеличении количества клеток закономерно увеличиваются показатели содержания белка. В среднем прирост титра 20-25 млн/см³ клеток соответствуют накоплению 1 % белка в культуральной жидкости. Однако это является лишь косвенным показателем, который не может учитывать морфологию клеток.

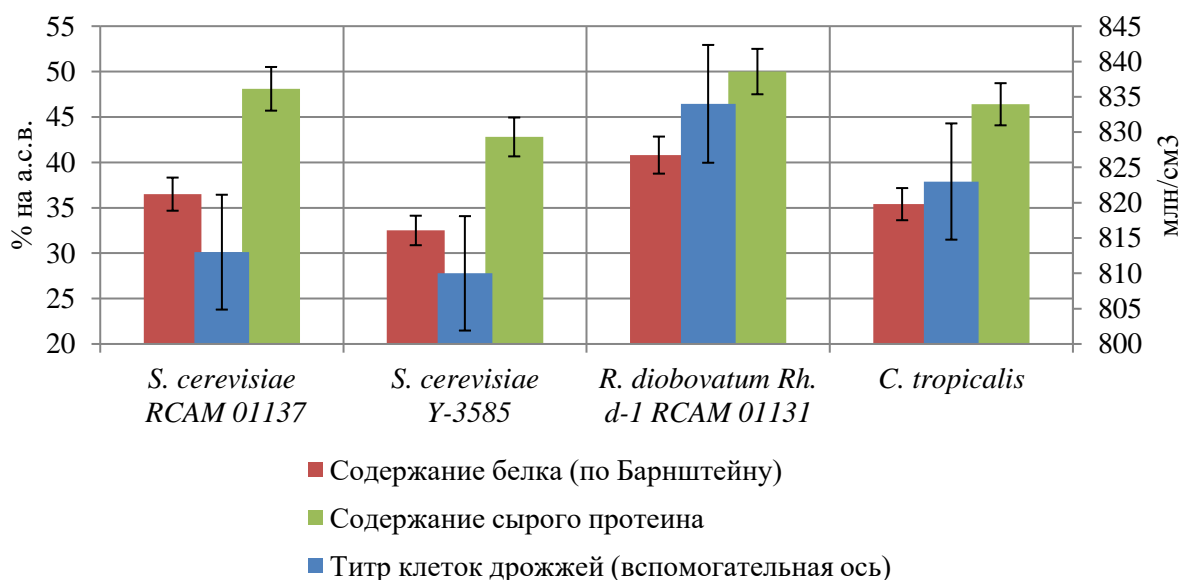


Рисунок 18 - Зависимость содержания белка (по Барнштейну) и сырого протеина от титра клеток

Наилучшие совокупные результаты были достигнуты с применением штамма *R. diobovatum* Rh. d-1 RCAM 01131 и комплекса минерального питания, который содержал 0,2 % карбамида + 0,06 % диаммоний фосфата.

2.7 Исследование качественного состава образцов протеинового кормопродукта

Культивирование микроорганизмов-продуцентов кормового белка проводили при следующих условиях:

4 штамма дрожжей:

1. *Saccharomyces cerevisiae* RCAM 01137;
2. *Saccharomyces cerevisiae* Y-3585;
3. *Rhodospiridium diobovatum* Rh. d-1 RCAM 01131;
4. *Candida tropicalis* CK-4.

6 видов сред:

- 1 – 100 % фракции пентозанов;
- 2 – 20 % фракции крахмала Б + 80 % фракции пентозанов;
- 3 – 10 % отрубей пшеничных + 90 % фракции пентозанов;
- 4 – 100 % зерновой барды;
- 5 – 80 % зерновой барды + 10 % фракции крахмала Б;
- 6 – 40 % измельченных клубней топинамбура + 60 % фракции пентозанов.

Механико-ферментативная схема водно-тепловой и ферментативной обработки, включающая двухступенчатую температурную обработку:

- 1 ступень – 70 °С, продолжительность 40 минут;
 - 2 ступень – 90 °С, продолжительность 140 минут;
- Ферментативный гидролиз – 58±1 °С, продолжительность 60 минут.

Ферментативная обработка:

Для сред 1-5:

- Viscoferm в дозировке 0,25 ед. КС/г сухих веществ;
- Lp-Нера в дозировке 4,5 ед АС/г крахмала сырья;
- Saczyme Plus 2X в дозировке 9 ед ГЛС/г крахмала сырья;

Для среды 6

- Viscoferm в дозировке 0,25 ед. КС/г сухих веществ;
- Novozym 960 в дозировке 0,5 ед INU/г. сухих веществ.

Минеральное питание: 0,2 % карбамида + 0,06 % диаммоний фосфата.

В культуральной жидкости контролировали:

- фактическое содержание растворимых сухих веществ, %;
- концентрацию редуцирующих веществ, г/100 см³;
- рН;
- массовую долю сырого протеина, % на а.с.в.;
- массовую долю белка по Барнштейну, % на а.с.в.

Уровень рН во всех вариантах приводили в диапазон 5,0 – 5,5, что связано с условиями культивирования микроорганизмов-продуцентов кормового белка.

Полученные результаты представлены в Таблице 16.

Таблица 16 – Основные показатели культуральной жидкости (лучшие варианты выделены полужирным шрифтом)

Дрожжи	Вар. пит. среды	Контролируемые параметры				
		СВ _{общ} , %	РВ, г/100 см ³	рН	Массовая доля сырого протеина, % на а.с.в.	Массовая доля белка по Барнштейну, % на а.с.в.
1	2	3	4	5	6	7
<i>S. cerevisiae</i> RCAM 01137	1	1,9±0,1	0,20±0,02	5,3±0,3	42,2±0,3	32,3±0,2
	2	3,3±0,1	0,20±0,03	4,6±0,2	49,3±0,3	37,3±0,3
	3	9,0±0,1	0,30±0,02	5,5±0,2	26,3±0,3	20,1±0,1
	4	3,3±0,1	0,20±0,04	4,2±0,3	36,4±0,3	27,7±0,2
	5	3,4±0,2	0,48±0,02	4,6±0,2	45,5±0,3	34,8±0,3
	6	3,2±0,1	0,24±0,03	4,3±0,1	27,7±0,2	21,5±0,2
<i>S. cerevisiae</i> Y-3585	1	2,1±0,2	0,29±0,04	4,1±0,1	33,4±0,2	25,4±0,3
	2	3,3±0,2	0,34±0,03	5,0±0,2	42,6±0,3	32,2±0,3
	3	9,1±0,1	0,52±0,02	6,2±0,1	21,5±0,3	16,5±0,3
	4	3,4±0,2	0,28±0,03	4,3±0,2	29,6±0,1	22,7±0,1
	5	3,6±0,1	0,31±0,04	4,5±0,3	40,3±0,3	30,8±0,1
	6	3,5±0,2	0,30±0,02	4,1±0,2	24,8±0,1	18,9±0,2

Продолжение таблицы 16

1	2	3	4	5	6	7
<i>R. diobovatum Rh. d-1</i> RCAM 01131	1	1,8±0,3	0,20±0,04	6,6±0,1	41,8±0,3	31,6±0,2
	2	3,4±0,1	0,20±0,03	5,7±0,2	50,4±0,2	40,2±0,3
	3	8,7±0,2	0,40±0,02	5,7±0,3	26,3±0,1	20,3±0,2
	4	3,2±0,1	0,18±0,02	4,2±0,2	36,7±0,2	28,1±0,1
	5	3,3±0,3	0,20±0,03	4,2±0,1	50,9±0,1	38,6±0,1
	6	3,4±0,2	0,22±0,02	4,4±0,1	30,6±0,2	24,0±0,3
<i>C. tropicalis CK-4</i>	1	2,2±0,1	0,20±0,03	6,5±0,3	35,8±0,2	27,0±0,2
	2	3,4±0,3	0,30±0,04	4,1±0,1	46,2±0,3	35,4±0,1
	3	8,8±0,2	0,30±0,04	5,9±0,2	25,4±0,2	19,8±0,2
	4	3,5±0,1	0,15±0,03	4,3±0,3	37,8±0,1	28,5±0,3
	5	3,5±0,2	0,25±0,02	4,3±0,3	50,6±0,2	38,3±0,3
	6	3,4±0,3	0,21±0,03	4,2±0,2	29,7±0,1	22,9±0,3

Из полученных данных видно, что во всех вариантах произошла эффективная ассимиляция углеводов из питательных сред, об этом свидетельствует низкая концентрация остаточных редуцирующих веществ, которая находится в диапазоне от 0,15 до 0,48 г/100 см³. Кроме того это свидетельствует о высокой степени доступности углеводов сырья, что говорит об эффективном проведении водно-тепловой и ферментативной обработке.

Во всех вариантах сред, кроме 1 и 3, наблюдается значительное падение (более 30 %) концентрации общих сухих веществ, что так же свидетельствует об интенсивно протекавшем процессе культивирования. В вариантах сред 1 и 3 данный показатель составил не более 10 %. Вариант среды 3 также характеризуется низким начальным содержанием редуцирующих веществ, а основная масса сухих веществ представлена нерастворимой фракцией – клетчаткой отрубей. Дефицит углеводного питания в данном случае является сдерживающим фактором накопления биомассы.

Об эффективности процесса культивирования микроорганизмов-продуцентов кормового белка можно косвенно судить по нарастанию рН среды. В процессе культивирования в среде накапливаются метаболиты дрожжей, которые, в отличие

от спиртового брожения, повышают значение рН среды. Поэтому в рамках непрерывного культивирования кормовых дрожжей необходимо предусмотреть возможность контроля и своевременного регулирования рН среды для обеспечения необходимых условий процесса и высокого выхода товарной продукции.

Однако наиболее важным показателем, который стоит оценивать при культивировании кормовых дрожжей, являются массовая доля сырого протеина и белка по Барнштейну. При анализе данного показателя можно однозначно сказать, что использование сред 1 и 3 нецелесообразно в промышленных масштабах, поскольку в этих вариантах прирост белка составлял не более 30 %, что является достаточно низким показателем. Варианты сред 4 и 5 показали лучшее значение по приросту белка, который достигал 70 %. Вариант 6 не отличался высокими показателями прироста белка, тем не менее, количество белка в зрелой культуральной жидкости, относительно питательной среды увеличилось почти в 2 раза. В варианте 2 питательной среды при культивировании штамма *R. diobovatum Rh. d-1 RCAM 01131* наблюдалось увеличение массовой концентрации белка в 2 раза, и составляет 40,2 % на а.с.в. Этот показатель является самым высоким среди всех рассматриваемых штаммов.

Чуть менее эффективным можно считать штамм *C. tropicalis CK-4*, который показал лучший результат на 5 варианте среды - 38,3 % на а.с.в.

Штаммы *S. cerevisiae RCAM 01137* и *S. cerevisiae Y-3585* показали удовлетворительную производительность по белку на средах 2 и 5, тем не менее их показатели значительно ниже, чем у остальных, что снижает целесообразность их промышленного применения для рассматриваемых вариантов сред.

Использование в качестве питательной среды смеси, состоящей из 40 % измельченных клубней топинамбура + 60 % фракции пентозанов, позволило получить лишь 24,0 % белка по Барнштейну на а.с.в. Данный показатель является достаточно низким и применять данную среду для культивирования микроорганизмов-продуцентов кормового белка, в контексте данной работы, не целесообразно. Однако стоит отметить, что протеиновый кормопродукт, полученный на данной среде, обладает высоким содержанием пищевых волокон и

инулина, что увеличивает его кормовую ценность и позволяет применять в качестве кормопродукта [2].

По результатам проведенных исследований установлено, что получение протеинового кормопродукта на основе ВСР целесообразно проводить при следующих условиях:

- сырье: смесь фракции крахмала Б 20 % + фракции пентозанов 80 %;
- минеральное питание: источник азота (карбамид) в количестве 0,4 %, источник фосфора (диаммоний фосфат) в количестве 0,06 %;
- штамм дрожжей: *Rhodospiridium diobovatum Rh. d-1 RCAM 01131*;

Режимы получения культуральной жидкости на всех стадиях технологического процесса приведены в Таблице 17

Таблица 17 – Режим процесса культивирования дрожжей для получения кормового белка

Сырье, параметры	Единицы измерения	Показатели
1	2	3
<i>Исходные среды</i>		
Показатели:		
- общие сухие вещества (СВ)	%	8,34
- общие растворимые вещества (ОРВ)	г/100 см ³	5,34
- рН		6,09
<i>Водно-тепловая и ферментативная обработка</i>		
Ферментные препараты:		
- Viscoferm	ед КС/г СВ	0,25
- Lp-Hera	ед АС/г крахмала сырья	4,5
Тепловая обработка I ступень:		
- температура	°С	70
- продолжительность	мин	40
Тепловая обработка II ступень:		
- температура	°С	90
- продолжительность	мин	140

Продолжение таблицы 17

1	2	3
Ферментативный гидролиз: - ферментный препарат Saczyme Plus 2X - температура - продолжительность	ед ГлС/г крахмала сырья °С мин	9,0 58 60
<i>Культивирование</i>		
Температура Продолжительность рН	°С ч	36 17 5,2

В Таблице 18 приведены основные технологические показатели питательной среды и культуральной жидкости

Таблица 18 - Основные технологические показатели питательной среды и культуральной жидкости

<i>Субстрат – питательная среда</i>		
Концентрация сухих веществ:		
- общие	%	8,3±0,2
- растворимые	%	6,7±0,1
- взвешенные	%	1,0±0,1
- редуцирующие вещества	г/100 см ³	5,5±0,1
- рН		5,24±0,09
- карбамид	%	0,2
- диаммонийфосфат	%	0,06
<i>Культуральная жидкость</i>		
Концентрация СВ:		
- общие	%	3,4±0,1
- растворимые	%	1,9±0,1
- взвешенные	%	1,5±0,1
Редуцирующие вещества	г/100 см ³	0,21±0,07
рН		5,7±0,3
Биомасса	г/100 см ³	9,1±0,4
Массовая доля белка по Барнштейну	% а.с.в.	41,1±0,3

Полученную культуральную жидкость высушивали на лабораторной

сушильной установке конвективного типа до влажности 9,4 %.

Выход сухих кормовых дрожжей составил 397 кг/т фракции крахмала Б.

Химический, аминокислотный, витаминный состав полученного кормопродукта приведен в Таблице 19.

Таблица 19 – Химический состав кормопродукта, полученного на основе ВСР

Показатели	% на а.с.в.	г/100 г
Влажность	-	9,0±0,6
Сырой протеин	46,5±0,5	41,9±0,4
Истинный белок по Барнштейну	44,5±0,4	39,1±0,4
Углеводы	0,34±0,08	0,31±0,06
Клетчатка	1,7±0,2	1,53±0,1
Сырой жир	1,5±0,1	1,35±0,1
Аминокислоты:		
Лизин	2,238±0,128	2,042±0,098
Гистидин	1,470±0,066	1,323±0,62
Аргинин	2,270±0,110	2,043±0,100
Аспарагиновая кислота	3,746±0,174	3,371±0,161
Треонин	1,839±0,092	1,655±0,081
Серин	1,548±0,079	1,393±0,066
Пролин	2,039±0,102	1,835±0,086
Глицин	2,232±0,111	2,009±0,098
Аланин	3,225±0,152	2,902±0,144
Валин	2,111±0,101	1,899±0,091
Метионин	0,848±0,41	0,763±0,033
Изолейцин	1,593±0,072	1,434±0,069
Лейцин	2,818±0,139	2,536±0,122
Тирозин	1,140±0,062	1,026±0,050
Фенилаланин	1,610±0,077	1,449±0,068
Сумма аминокислот	37,80±1,91	34,02±1,68
Витамины, мг/кг а.с.в.		
1	2	
В ₁ (тиамин)	24,0±0,9	
В ₂ (рибофлавин)	30,5±1,4	
В ₃ (пантотеновая кислота)	115,5±4,8	
В ₄ (холин)	2800,0±137,6	
В ₅ (никотиновая кислота)	422,0±20,5	

Продолжение таблицы 19

1	2
В ₆ (свободный пиридоксин)	33,5±1,6
Н (биотин истинный)	364,5±17,9
В ₁₂ (кобаламин) мкг	0,47±0,03
Пара-аминобензойная кислота	21,45±0,98
Каратиноиды (β-кар.)	2,5±0,1
Микроэлементы, мг/кг а.с.в.	
Марганец	76,2±3,5
Железо	530,0±25,9
Медь	8,2±0,3
Цинк	25,1±1,3
Кальций	1,4±0,1
Фосфор	4,4±0,2

Расчет энергетической ценности протеинового кормопродукта производится по формуле 7:

$$Э_{ц} = (C_{к1} \cdot Э_{ц к1}) + (C_{к2} \cdot Э_{ц к2}) + \dots n_{к}; \quad (7)$$

где: $C_{к}$ – содержание компонента, г/100 г;

$Э_{ц к}$ – энергетическая ценность компонента, ккал;

$n_{к}$ – количество компонентов.

Тогда энергетическая ценность по основным компонентам: протеин, жиры, углеводы, клетчатка по формуле 7 составит:

$$Э_{ц} = (41,85 \cdot 4,1) + (1,35 \cdot 9,3) + (0,31 \cdot 4,1) + (1,53 \cdot 1,9) = 188,3 \text{ ккал/100г}$$

Энергетическая ценность полученной продукции составила 188,3 ккал/100 г, что соответствует 1,3 к.е.

Анализ данных Таблицы 20 показывает, что в кормовых дрожжах, культивируемых на смеси фракции крахмала Б и пентозанов в соотношении 1 : 4, содержится значительное количество таких аминокислот как: лизин, гистидин, аспарагиновая кислота, серин, глицин, лейцин, тирозин что увеличивает кормовую ценность данной продукции. Кроме того, в них содержатся витамины группы В, бета-каротин.

Таким образом, по результатам анализа состава кормопродукта, полученного

на смеси фракции крахмала Б и пентозанов в соотношении 1/4 следует, что он соответствует требованиям ГОСТ 20083-74 «Дрожжи кормовые. Технические условия», богат аминокислотами и витаминами.

2.8 Выводы по главе 2

1. Исследован химический состав ВСП производств по глубокой переработке зернового сырья: крахмал Б, отруби, пентозаны, зерновая барда, а также топинамбура.

2. Исходя из химического состава ВСП разработаны композиции питательных сред на основе имеющегося сырья, которые в полной мере удовлетворяют необходимым условиям для эффективного культивирования кормовых дрожжей:

Среда 1 – 100 % фракции пентозанов;

Среда 2 – 20 % фракции крахмала Б + 80 % фракции пентозанов;

Среда 3 – 10 % отрубей пшеничных + 90 % фракции пентозанов;

Среда 4 – 100 % зерновой барды;

Среда 5 – 80 % зерновой барды + 20 % фракции крахмала Б;

Среда 6 – 40 % измельченных клубней топинамбура + 60 % фракции пентозанов.

3. Установлены режимы водно-тепловой и ферментативной обработки сырья, которые позволяют эффективно произвести гидролиз углеводов сырья в усвояемую дрожжами форму. Установлено, что в наибольшей степени целям исследования подходит схема механико-ферментативной обработки по следующей схеме:

- двухстадийное последовательное нагревание замеса в присутствии ферментных препаратов амилолитического действия до 70 ± 1 °С с выдерживанием в течение 40 минут и последующим нагреванием замеса до температуры 90 ± 2 °С с выдерживанием в течение 140 минут.

- ферментативный гидролиз полисахаридов сырья в течение 60 минут при температуре 58 ± 1 °С.

- Комплекс ферментных препаратов:

Для сред 1-5:

- Viscoferm в дозировке 0,25 ед. КС/г сухих веществ;
- Lp-Hera в дозировке 4,5 ед АС/г крахмала сырья;
- Saczyme Plus 2X в дозировке 9 ед ГЛС/г крахмала сырья;

Для Среды 6

- Novozym 960 в дозировке 0,5 ед INU/г. сухих веществ.

4. В ходе проведения научных исследований определены штаммы продуценты кормового белка, которые способны в полной мере ассимилировать углеводы разработанных вариантов питательных сред: *Saccharomyces cerevisiae RCAM 01137* и *Y-3585*, *Rhodospiridium diobovatum Rh. d-1 RCAM 01131*, *Candida tropicalis CK-4*.

5. Проведено исследование по оптимизации дозировки минерального, азотно-фосфорного питания, которое способствует интенсификации метаболизма микроорганизмов и накоплению биомассы кормовых дрожжей. Экспериментально установлено, что наиболее эффективным является композиция минерального питания, содержащая 0,2 % карбамида и 0,06 % диаммоний фосфата.

6. Наилучшие результаты достигнуты при культивировании штамма *Rhodospiridium diobovatum Rh. d-1 RCAM 01131* на среде, содержащей фракцию крахмала Б и фракцию пентозанов в соотношении 1:4. В данном случае массовая концентрация белка по Барнштейну составила 40,2 % на а.с.в., а массовая концентрация сырого протеина – 48,6 % на а.с.в., что соответствует требованиям ГОСТ 20083-74 «Дрожжи кормовые. Технические условия».

7. Проведено исследование химического состава полученных кормовых дрожжей. Установлено, что энергетическая ценность полученных кормовых дрожжей составляет 1,3 к.е., содержание белка по Барнштейну превышает 40 % на а.с.в. В составе присутствует широкий спектр аминокислот, в том числе незаменимых, а также витамины, микроэлементы. Выход кормовых дрожжей составил 397 кг/т фракции крахмала Б.

Результаты исследования являются научно-обоснованными исходными данными для разработки ресурсосберегающей технологии получения протеиновых кормопродуктов на основе ВСР зерноперерабатывающих производств и клубней топинамбура.

ГЛАВА 3 Разработка ресурсосберегающей технологии получения протеиновых кормовых продуктов

3.1 Разработка принципиальной схемы получения протеиновых кормопродуктов

Полученные исходные данные позволили разработать принципиальную схему получения протеиновых кормопродуктов на основе ВСП зерноперерабатывающих производств (Рисунок 19).

Данная схема включает в себя следующие этапы:

- приготовление суспензии ВСП;
- водно-тепловая и ферментативная обработка суспензии ВСП по механико-ферментативной схеме;
- ферментативный гидролиз (осахаривание) разваренной массы;
- приготовление питательной среды: добавление минерального питания, создание благоприятного для культивирования микроорганизмов-продуцентов кормового белка рН путем добавления раствора серной кислоты или гидроксида натрия (при необходимости);
- отъем и стерилизация питательной среды для разведения чистой культуры засевных дрожжей;
- генерация чистой культуры засевных дрожжей для их дальнейшего непрерывного культивирования;
- ферментация питательной среды с регулированием показателя рН и добавлением раствора пеногасителя (при необходимости) при непрерывной аэрации с получением культуральной жидкости;
- термообработка с целью инактивации живых микроорганизмов-продуцентов кормового белка;
- сушка культуральной жидкости с получением товарной продукции.

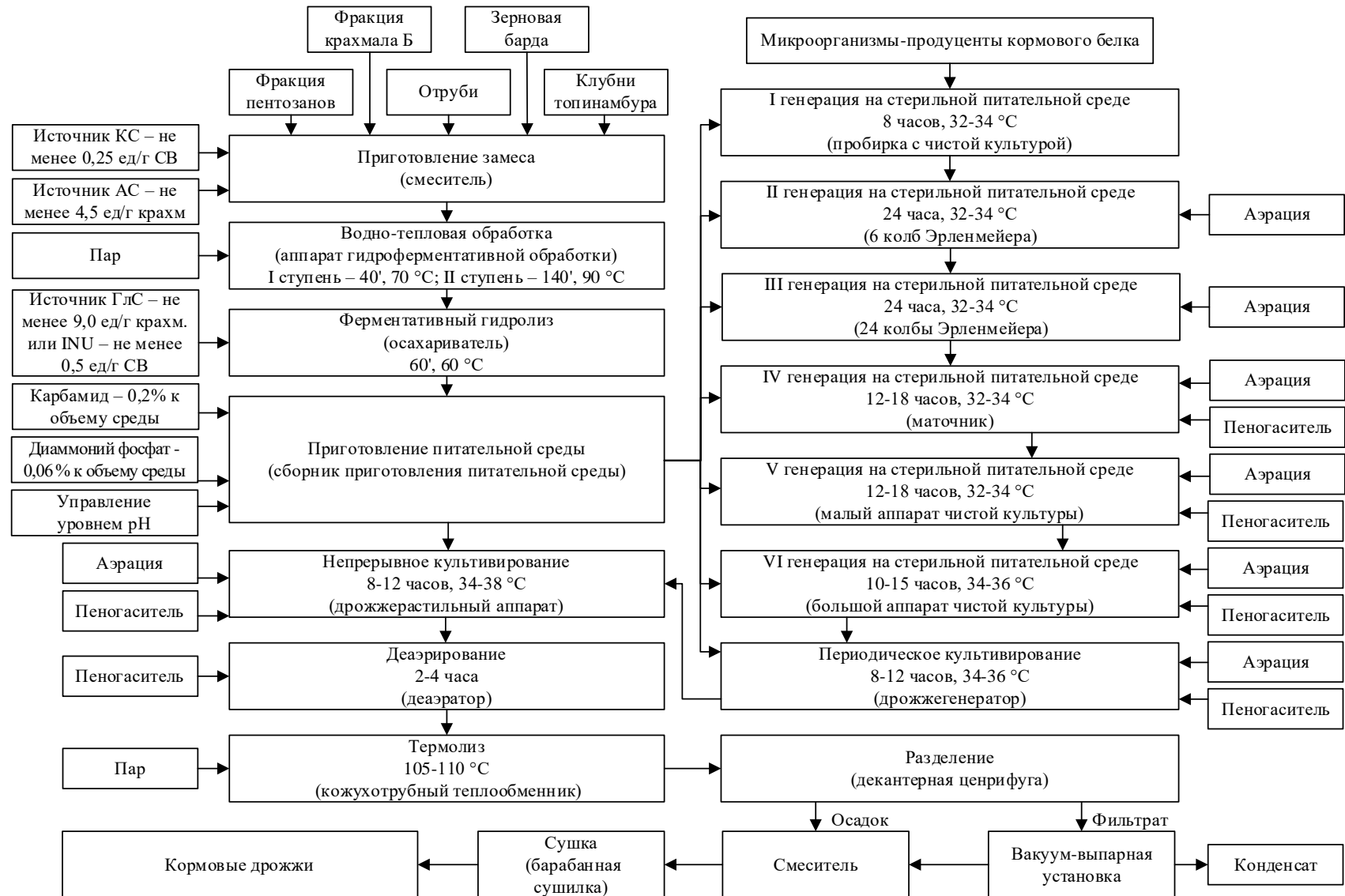


Рисунок 19 – Принципиальная схема получения протеинового кормопродукта на основе ВСР.

Предложенная схема является гибкой с точки зрения ее интеграции в существующее производство по глубокой переработке зерна и наиболее рациональной в рамках использования типового оборудования.

При этом она может быть унифицирована с целью использования широкого спектра углеводсодержащего сырья при культивировании штаммов-продуцентов кормового белка.

3.2 Разработка режимов и параметров основных технологических процессов

Приготовление раствора питательных солей

Для повышения эффективности и интенсификации процессов культивирования микроорганизмов-продуцентов кормового белка в питательной среде должно быть достаточно усвояемого азота. С этой целью в питательную среду необходимо внесение минерального питания: карбамид и диаммоний фосфат, в виде водных растворов. Данная концентрация обусловлена оптимизацией процессов массопереноса в среде.

Приготовление водного раствора солей осуществляют с учетом суточной потребности производства, по следующей схеме: в сборник приготовления раствора солей, оборуданный перемешивающим устройством, подают воду с температурой от 45 до 50 °С, соль взвешивают на весах и подают в сборник. Включают мешалку и задают растворы минеральных солей (0,2 % карбамида и 0,06% диаммоний фосфата). Перемешивание ведут в течение от 1 до 1,5 часа. Раствор соли направляют в расходный сборник раствора солей и далее через насос-дозатор в сборник приготовления питательной среды.

Приготовление питательной среды

Основная цель – создание композиции из ВСП, удовлетворяющей требованиям для эффективного культивирования микроорганизмов-продуцентов кормового белка.

Процесс включает в себя этапы смешивания ВСП, их водно-тепловую и ферментативную обработку, ферментативный гидролиз полисахаридов сырья, и

охлаждение до температуры культивирования.

Приготовление субстрата необходимо осуществлять по следующему плану: фракцию Крахмала Б с содержанием общих СВ от 31,5 до 31,9 % разбавляют фракцией пентозанов с содержанием сухих веществ от 2,3 до 2,7 % в соотношении 4 к 1 с получением суспензии с концентрацией сухих веществ от 8,3 до 8,5 %. Суспензию подвергают водно-тепловой и ферментативной обработке в соответствии со схемой, представленной на Рисунке 20.



Рисунок 20 – Схема приготовления питательного субстрата

Полученный субстрат на основе ВСР направляют в сборник приготовления питательной среды, куда поступает минеральное питание и происходит корректировка рН.

Приготовление питательной среды

Питательная среда представляет собой смесь субстрата и раствора минеральных солей.

Готовый субстрат направляют в сборник для приготовления питательной среды, оснащенный мешалкой и змеевиком, куда одновременно поступают растворы питательных солей из расходного сборника. Температура питательной среды при этом поддерживается на уровне от 35 до 38 °С. Регулирование и поддержание заданной температуры питательной среды обеспечивают путем подачи холодной или горячей воды (пара) в змеевик.

В процессе приготовления питательной среды происходит непрерывный контроль показателя рН. Для создания необходимых условий культивирования микроорганизмов-продуцентов кормового белка его уровень должен соответствовать используемой культуре. Для *Rhodosporidium diobovatum Rh. d-1 RCAM 01131* данный показатель лежит в диапазоне 5,0-5,5. При необходимости уровень рН подвергается корректировке путем добавления концентрированных растворов гидроксида натрия – для повышения уровня рН или серной кислоты – для снижения.

Полученную питательную среду из сборника для приготовления питательной среды направляют в маточник, малый и большой АЧК, дрожжегенератор и дрожжерастильный аппарат.

Подготовка воздуха для культивирования микроорганизмов-продуцентов кормового белка

Все емкости, где происходят процессы культивирования микроорганизмов-продуцентов кормового белка (маточник, малый и большой АЧК, дрожжегенератор и дрожжерастильный аппарат) должны быть оснащены системой аэрации барботажного типа или системой подачи воздуха по типу эрлифта.

Забор воздуха на воздуходувки производят из относительно чистой воздушной зоны, расположенной на расстоянии 30 - 40 метров от дрожжерастильных аппаратов, через воздухозаборную трубу и фильтрующий материал (бумага или полиэстер).

Сжатие воздуха производят турбовоздуховками до давления 60-80 кПа.

Количество воздуха, подаваемого на аэрацию, составляет 60-80 м³/м³ питательной среды

Культивирование чистой культуры микроорганизмов-продуцентов кормового белка

Выращивание чистой культуры предусматривает накопление посевного материала («засевная культура») в лабораторных и в производственных условиях.

Накопление посевного материала в лабораторных условиях состоит из следующих этапов:

- приготовление питательной среды для колб Эрленмейера;
- культивирование культуры микроорганизмов в колбах Эрленмейера.

Исходным материалом является культура дрожжеподобных грибов *Rhodospiridium diobovatum Rh.d-1*.

Чистую культуру микроорганизмов-продуцентов кормового белка ведут в музее чистых культур Всероссийского научно-исследовательского института пищевой биотехнологии – филиале Федерального государственного бюджетного учреждения науки «Федерального исследовательского центра питания, биотехнологии и безопасности пищи. Чистую культуру при непрерывной технологии производства необходимо приобретать с периодичностью не реже одного раза в квартал и хранить в соответствии с условиями, указанными в паспорте на штамм. При получении посевного материала для лабораторного культивирования используют пробирки с культурой дрожжей на косяках возрастом не более 2 месяцев. Температура хранения пробирки с культурой дрожжей от 5 до 10 °С, периодичность пересева 5÷6 недель.

Характеристика культуры *Rhodospiridium diobovatum Rh.d-1* приведена в разделе 2.5 настоящей диссертации.

Лабораторное культивирование чистой культуры

Культивирование микроорганизмов-продуцентов кормового белка на лабораторной стадии проводят в 3 этапа. В качестве питательной среды в данном случае используют стерильное зерновое сусло с концентрацией СВ 6 % и рН 4,5 – 4,8.

На каждом этапе производится микробиологический контроль путем подсчета

клеток культивируемого микроорганизма в счетной камере Горяева при помощи светового микроскопа. Количество клеток должно быть не менее 250 млн/см³, при этом число почкующихся должно быть не менее 20 %, а число мертвых не более 7 %.

Первый этап. Три пробирки с чистой культурой на косяках сусло-агара заливают 15 см³ питательной среды, при соблюдении техники микробиологических работ в стерильных условиях. Пробирки закрывают ватными пробками и помещают в термостат на 8 часов при температуре 32 - 34 °С.

Второй этап. 7 см³ засевной культуры, полученной на первом этапе, переносят при соблюдении техники микробиологических работ в стерильных условиях в 6 колб Эрленмейера общей вместимостью 750 см³ содержащих 150 см³ питательной среды.

Культивирование в колбах проводят на протяжении 24 часов в термостатной камере при температуре 32 - 34 °С на качалке с частотой вращения от 3,0 до 3,3 с⁻¹.

Третий этап. Засевную культуру, полученную на втором этапе, из 6 колб переносят при соблюдении техники микробиологических работ в стерильных условиях в 24 колбы Эрленмейера общей вместимостью по 750 см³ и содержащих 150 см³ питательной среды.

Культивирование на этом этапе проводят на протяжении 24 часов в термостатной камере при температуре 32 - 34 °С на качалке с частотой вращения от 3,0 до 3,3 с⁻¹.

На каждом этапе производится микробиологический контроль путем подсчета клеток культивируемого микроорганизма в счетной камере Горяева. Титр клеток должен составлять не менее 250 млн/см³, при этом число почкующихся должно быть не менее 25 %, а число мертвых не более 7 %. Если титр клеток составляет менее 250 млн/см³, то культивирование продолжают при тех же условиях в течение еще 8 часов, после чего снова производят подсчет. В случае, если титр так и не достиг необходимой величины, дрожжи являются испорченными, и для работы необходимо взять новую культуру.

Промышленное культивирование чистой культуры

Перед началом работ каждый аппарат и коммуникации подвергают

стерилизации. Для этого аппараты тщательно промывают горячей водой с концентрированным раствором гидроксида натрия и прогревают острым паром в течение 1 часа. После охлаждения аппарат заполняют водой на 30 - 50 % и нагревают ее до кипения. Горячую воду спускают по продуктовой коммуникации, после чего аппарат вновь пропаривают в течение 1 часа.

На данном и следующих этапах в качестве питательной используется стерильная питательная среда, приготовленная на основе ВСР зерноперерабатывающих предприятий. Для ее стерилизации необходимый объем, набранный в конкретный аппарат, нагревают до температуры не менее 95 °С при помощи острого пара или змеевика и выдерживают в течение 1 часа. После этого питательную среду остужают артезианской (оборотной) водой, путем подачи ее в рубашку (змеевик), до температуры 34-36 °С и приступают к культивированию.

Каждый аппарат чистой культуры оснащен системой аэрации барботажного типа. Во время культивирования минимальный расход воздуха, подаваемого на аэрацию 1 м³ среды, должен составлять не менее 60 м³/ч;

Периодическое культивирование в маточнике

В стерильный маточник общим объемом 0,06 м³, содержащий 0,04 м³ стерильной питательной среды вносят засевную культуру, полученную на третьей лабораторной стадии, в количестве не менее 1 % от объема питательной среды и включают непрерывную аэрацию. Культивирование проводят в течение 6-8 часов при постоянном поддержании температуры 32-34 °С и рН в диапазоне 5,0-5,5. Температуру поддерживают путем подачи холодной (или горячей) воды в змеевик или водяную рубашку. Корректирование рН проводят путем добавления концентрированного раствора гидроксида натрия или серной кислоты. При необходимости используют раствор пеногасителя. Продолжительность культивирования составляет 12-18 часов и зависит от титра клеток и скорости накопления биомассы.

Периодическое культивирование в малом аппарате чистой культуры (МАЧК)

В стерильный МАЧК объемом 0,6 м³, содержащий 0,4 м³ стерильной

питательной среды вносят весь объем засевной культуры, полученной в маточнике, и включают непрерывную аэрацию. Культивирование проводят в течение 12-18 часов, при постоянном поддержании температуры 32-34 °С и рН в диапазоне 5,0-5,5. Температуру поддерживают путем подачи холодной (или горячей) воды в змеевик или водяную рубашку. Корректирование рН проводят путем добавления концентрированного раствора гидроксида натрия или серной кислоты. При необходимости используют раствор силиконового пеногасителя.

Периодическое культивирование в большом аппарате чистой культуры (БАЧК)

В стерильный БАЧК объемом 5,0 м³, содержащий 3,0 м³ стерильной питательной среды, вносят весь объем засевной культуры, полученной в МАЧК, и включают непрерывную аэрацию. Культивирование проводят в течение 10-15 часов при постоянном поддержании температуры 34-36 °С и рН в диапазоне 5,0-5,5. Температуру поддерживают путем подачи холодной (или горячей) воды в змеевик или водяную рубашку. Корректирование рН проводят путем добавления концентрированного раствора гидроксида натрия или серной кислоты. При необходимости используют раствор пеногасителя.

По завершении культивирования чистой культуры в БАЧК количество дрожжевых клеток должно составлять не менее 400 млн/см³, в том числе почкующихся от 25 до 30 %. Засевную культуру из БАЧК вносят в дрожжегенератор при максимальной скорости ее размножения.

Периодическое культивирование в дрожжегенераторе (ДГ)

В промытый и простерилизованный ДГ, объемом 100 м³, содержащий питательную среду в объеме 50-55 м³ вносят весь объем засевной культуры из БАЧК в количестве 3 м³.

Культивирование осуществляют при следующих параметрах:

- расход воздуха, подаваемого на аэрацию 1 м³ среды от 60 до 70 м³/ч;
- температура среды от 37 до 38 °С, поддерживаемая путем подачи холодной (или горячей) воды в змеевик или водяную рубашку;
- рН среды от 5,0 до 5,5;

- длительность культивирования от 8 до 12 часов.

Процесс заканчивают при достижении титра клеток не менее 500 млн/см³, в том числе почкующихся от 30 до 35 %. Засевную культуру из ДГ объемом 30-35 м³ вносят в дрожжерастильный аппарат в стадии ее максимального размножения 2 раза в сутки. Оставшиеся в ДГ 10-15 м³ культуральной жидкости используют в качестве засевной культуры для следующей генерации культуры.

Промышленное культивирование кормовых дрожжей

Культивирование микроорганизмов-продуцентов кормового белка проводят непрерывно-поточным способом в двух дрожжерастильных аппаратах (ДА) объемом 400 м³ каждый, оснащенных барботажной системой подачи воздуха лучевого типа.

Культивирование начинают в приточном режиме с последующим переходом на непрерывный процесс. Питательную среду подают в промытый и продезинфицированный ДА в объеме 100 м³. После чего подают воздух и 30-35 м³ засевную культуру из ДГ и заполняют ДА питательной средой, не прекращая аэрирования, до объема 200-220 м³.

Через 16-18 ч от начала заполнения аппарата концентрация дрожжевых клеток должна достигать от 600 до 650 млн/см³. С этого момента в аппарат начинают непрерывно подавать питательную среду и отбирать такое же количество культуральной жидкости в деаэратор.

Концентрация клеток микроорганизма-продуцента кормового белка в культуральной жидкости поддерживается на уровне не менее 400-600 млн/см³, в случае необходимости - путем дополнительного введения в аппарат засевной культуры из ДГ, а также регулирования притока питательной среды и отбора культуральной жидкости из аппарата.

В условиях непрерывного процесса культивирования микроорганизмов-продуцентов белка для эффективного накопления биомассы необходимы интенсивная аэрация, равномерное поступление питательной среды с достаточным содержанием минерально-углеводного питания, а также поддержание рН среды и температуры в оптимальных диапазонах. Резкое изменение рН и температуры, неравномерная подача питательной среды отрицательно влияют на накопление

биомассы культуры.

Культивирование микроорганизмов-продуцентов кормового белка ведут при следующих параметрах:

- расход воздуха, подаваемого на аэрацию 1 м³ среды, не менее 60 м³/ч;
- температура среды от 37 до 38 °С, поддерживаемая путем подачи холодной (или горячей) воды в змеевик или водяную рубашку;
- рН среды от 5,0 до 5,5;
- постоянный уровень культуральной жидкости, непрерывный приток (до 20 м³/ч) питательной среды и отбор зрелой культуральной жидкости, обеспечивающие время пребывания среды в аппарате 8-12 часов.

В процессе культивирования микроорганизмов-продуцентов кормового белка может происходить вспенивание культуральной жидкости. Для ее гашения используют пеногаситель. Пеногаситель используют в виде водного раствора. Для этого пеногаситель смешивают с горячей водой при температуре от 60 до 70 °С в соотношении 1 : 8 или 1 : 10 в сборнике гомогенизаторе и, перемешивая в течение 20 - 30 мин, превращают в эмульсию.

Приготовленный водный раствор пеногасителя из сборника направляют насосами-дозаторами в дрожжерастильные аппараты.

Дегазирование культуральной жидкости

Отбираемая из дрожжерастильных аппаратов культуральная жидкость должна быть дегазирована путем удаления из нее пузырьков воздуха. Быстрое разрушение пены достигается при механическом перемешивании культуральной среды в присутствии поверхностно-активного вещества (ПАВ) – пеногасителя. Пеногаситель используют в виде водного раствора, который непрерывно и равномерно дозируют в зону перемешивания насосом-дозатором.

КЖ из ДА самотеком поступает в деаэратор (ДЭ), который заполняют на 70 % от общего объема аппарата. Время пребывания эмульсии зрелой культуральной жидкости в деаэраторе составляет 20 - 40 минут.

Для дополнительного разрушения пены деаэратор целесообразно обвязать с вакуум-насосом.

Термолиз культуральной жидкости

Термолиз дрожжевой суспензии проводят с целью инактивации и разрушения дрожжевых клеток, что повышает усвояемость корма с/х животными.

Культуральную жидкость из деаэрата непрерывно подают насосом в спиральный теплообменник, где происходит ее подогрев теплом используемого сырья, поступающего с основного производства, и далее ее направляют в кожухотрубный теплообменник для нагрева острым паром до температуры 85 - 90 °С. Нагретая дрожжевая суспензия поступает в термолизатор, где ее выдерживают 45 - 50 минут. Из термолизатора дрожжевую суспензию насосом подают на стадию разделения.

Переработка культуральной жидкости в сухие кормопродукты

Процесс получения сухого продукта из культуральной жидкости является одним из наиболее значимых этапов производства кормовых дрожжей с точки зрения энергоэффективности и безотходности технологии. Распространенной технологией получения сухих кормовых дрожжей, применяемой на большинстве производств в 80-90-е годы, являлось выделение и сгущение биомассы дрожжей из культуральной жидкости на сепараторе с последующей сушкой на распылительной сушилке. При этом расход природного газа на сушку составлял 1 000-1 500 м³/т сухого продукта, количество фугата культуральной жидкости (с ХПК 15-20 тыс. ед./дм³), подлежащего утилизации составляло до 80 % от объема КЖ. В настоящее время такая технология недопустима ни с экономической, ни с экологической точек зрения. Анализ способов получения сухих кормопродуктов [14, 15, 26, 28, 30, 44, 51] показал, что для сушки КЖ в наибольшей степени подходит способ получения DDGS (сухой барды), применяемый на большинстве спиртовых заводов мира для сушки барды. Основными этапами данного способа являются: разделение КЖ на фильтрат и осадок на декантерной центрифуге, концентрирование фильтрата на вакуум-выпарной установке, смешивание осадка, концентрата фильтрата и части сухого продукта с последующей сушкой смеси в сушильной установке барабанного или роторно-трубчатого типа.

Разделение культуральной жидкости

Культуральная жидкость из термолизатора поступает на стадию разделения на фугат и осадок. Разделение осуществляют на декантере - горизонтальной винтовой центрифуге.

Культуральную жидкость из термолизатора непрерывно подают в полый горизонтальный ротор центрифуги, вращающийся с большой скоростью. Фильтрат проходит через перфорированные стенки ротора, а образующийся внутри осадок удаляют шнеком, приводимым во вращение от собственного привода. Производительность центрифуги зависит от физико-химических свойств культуральной жидкости и от требований, предъявляемых к конечным получаемым продуктам. Степень разделения составляет от 80 до 90 %. Эти аппараты позволяют вести процесс непрерывно [48, 68, 77].

Фильтрат направляют на вакуум-выпарную установку для его концентрирования.

Влажный осадок-кек с содержанием сухих веществ от 30 до 35 %, направляют в смеситель. Туда же направляют упаренный концентрат, поступающий из вакуум-выпарной установки.

Полученный после центрифугирования фугат (фильтрат) культуральной жидкости с содержанием сухих веществ от 3,5 до 5,0 % подают на вакуум-выпарную установку, где происходит его концентрирование до содержания сухих веществ от 30 до 35 %.

Вакуум-выпаривание фильтрата культуральной жидкости

Выпарные установки применяют для концентрирования жидких продуктов путем испарения лишней влаги. С этой целью продукт нагревают обычно до кипения, а образующиеся пары отводят. Выпаривание производят под давлением ниже атмосферного в закрытых аппаратах.

Выпариватели вместе с сепараторами выпаривателей и циркуляционными насосами образуют соответствующие контуры циркуляции. Оборудование контуров циркуляции вместе с поверхностными конденсаторами, тепловым насосом и вакуумным насосом образует вакуум-выпарную установку [41, 77].

Смешивание полупродуктов

С целью уменьшения влажности полупродуктов, поступающих на высушивание в сушильный аппарат, производят их смешивание в смесителе, после чего готовую смесь подают в роторно-трубчатую сушильную установку.

Полученный после разделения дисперсный осадок культуральной жидкости с содержанием сухих веществ 30 % поступает в шнековый конвейер, где происходит его предварительное смешивание с возвращаемой из сушильного аппарата частью высушенного продукта с содержанием сухих веществ от 85 до 90 процентов. Шнековым конвейером масса подается в смеситель непрерывного действия, куда так же поступает упаренный концентрат фильтрата культуральной жидкости с содержанием сухих веществ 30 %, полученный после выпаривания на вакуум-выпарной установке. В смесителе происходит интенсивное перемешивание всех полупродуктов до однородного состояния. Образующаяся смешанная масса с содержанием сухих веществ от 55 до 60 % должна обладать сыпучестью, необходимой для равномерной сушки. Готовую смесь подают в роторно-трубчатую сушилку [48, 68].

Сушка продукта

Процесс сушки осуществляют в роторно-трубчатой сушильной установке. В сушильном аппарате смешанный продукт с влажностью от 40 до 45 % высушивают до влажности 8 - 10 %. Перед первым пуском сушильного аппарата необходимо обеспечить запас сухого кормопродукта для последующего его использования при смешивании с обезвоженным осадком культуральной жидкости [15, 30].

Сушку смеси полупродуктов производят за счет соприкосновения его с горячими поверхностями. Продвижение продукта происходит в осевом направлении за счет винтообразного расположения лопаток, одновременно происходит перемешивание рыхлителями и дополнительная сушка встречным потоком воздуха.

При заполнении сушильной камеры на 60-80 % для достижения требуемой влажности (8 - 10 %) продолжительность нахождения продукта в сушильной камере составляет 45 минут. Во время работы сушильного аппарата необходимо периодически контролировать влажностью продукта на выходе.

Готовый сухой кормопродукт с содержанием влаги не более 10 % из

сушильного аппарата поступает в бункер-накопитель, откуда его направляют на упаковку.

3.3 Расчет основных материально-продуктовых потоков

Пример материального расчёта выполнен для производства 50 тонн сухих кормовых дрожжей в сутки. В качестве питательной среды использована разработанная питательная среда, содержащая фракцию пентозанов и фракцию крахмала Б в соотношении 4 : 1.

Состав питательной среды представлен в Таблице 20.

Таблица 20 - Состав питательной среды

Наименование	Содержание, %	Количество	
		кг/ч	кг/сут
Сухие вещества:			
- ассимилируемые	5,3	1 401,8	33 643,1
- не ассимилируемые	3,1	819,9	19 678,1
Всего сухих веществ	8,4	2 221,7	53 321,2
Вода	91,6	24 227,3	581 454,8
Итого:	100,0	26 449,0	634 776,0

Количество не ассимилируемых веществ, которые переходят в протеиновый кормопродукт в процессе производства равно 19 678,1 кг/сут. или 829,9 кг/ч.

Приготовление питательной среды

Количество питательной среды, направляемой на культивирование микроорганизмов-продуцентов кормового белка, составляет:

$$20\,978,8 + 5\,244,7 + 225,5 = 26\,449,0 \text{ кг/ч,}$$

где: 20 978,8 – количество фракции пентозанов, кг/ч;

5 244,7 – количество фракции крахмала Б, кг/ч;

225,5 – количество 20 % раствора минеральных солей, кг/ч.

Количество сухих веществ в питательной среде, направляемой на культивирование микроорганизмов-продуцентов кормового белка, составляет:

$$524,5 + 1\,662,6 + 45,1 = 2\,232,2 \text{ кг/ч,}$$

где: 524,5 – количество а.с.в. во фракции пентозанов, кг/ч;

1 662,6 – количество а.с.в. во фракции крахмала Б, кг/ч;

45,1 – количество а.с.в. в растворе минеральных солей, кг/ч.

Массовая доля сухих веществ питательной среды, направляемой на культивирование микроорганизмов-продуцентов кормового белка, составляет:

$$\frac{2\,232,2 \cdot 100}{26\,449,0} = 8,4 \%$$

Культивирование кормовых дрожжей

Общий объем культуральной жидкости в дрожжерастильных аппаратах составляет 40 % от общего объема аппарата:

$$\frac{(400,0 \cdot 2) \cdot 40}{100} = 320,0 \text{ м}^3,$$

где: 400,0 – объем одного ДА;

2 – количество дрожжерастильных аппаратов;

40 – объем заполнения ДА, %.

Количество воздуха, подаваемого на аэрирование в ДА, при условии расхода 60 м³/ч на 1 м³ культуральной жидкости, составит:

$$320,0 \cdot 60 = 19\,200,0 \text{ м}^3/\text{ч.}$$

Количество воздуха, отводимого из ДА в процессе культивирования, составит: 19 200,0 м³/ч.

Испаряется влаги при дрожжегенерации (принимаем 6,0 %):

$$\frac{26\,449,0 \cdot 6,0}{100} = 1\,586,9 \text{ кг/ч}$$

Траты сухих веществ при дрожжегенерации (принимаем 16,0 %):

$$\frac{2\,232,1 \cdot 16,0}{100} = 357,1 \text{ кг/ч}$$

Количество культуральной жидкости, поступающей на концентрирование, составит:

$$26\,449,0 - 1\,586,9 = 24\,862,1 \text{ кг/ч}$$

Количество сухих веществ в культуральной жидкости, поступающей на

концентрирование, составит:

$$2\,232,1 - 357,1 = 1\,875,0 \text{ кг/ч}$$

Массовая доля сухих веществ в культуральной жидкости, поступающей на концентрирование, составит:

$$\frac{1\,875,0 \cdot 100}{24\,862,1} = 7,5 \%$$

Разделение дрожжевой суспензии

Принимаем, что массовая доля сухих веществ в концентрате дрожжевой биомассы, образуемом на стадии разделения на декантерах, равна 30 %. Количество сухих веществ, содержащихся в концентрате дрожжевой биомассы, поступающем на сушку с декантеров, составляет порядка 40 % от их содержания в дрожжевой суспензии, или 750,0 кг/ч. Количество концентрата дрожжевой биомассы с декантеров, поступающего на сушку, составит:

$$\frac{750,0 \cdot 100}{30} = 2\,500,0 \text{ кг/ч}$$

Количество фильтрата (фугата), получаемого при разделении дрожжевой суспензии на декантерах и поступающего на дальнейшее концентрирование на вакуум-выпарную установку, составит:

$$24\,862,1 - 2\,500,0 = 22\,362,1 \text{ кг/ч}$$

Количество сухих веществ в фугате дрожжевой суспензии, поступающей на вакуум-выпарную установку, составит:

$$1\,875,0 - 750,0 = 1\,125,0 \text{ кг/ч}$$

Массовая доля сухих веществ в фильтрате дрожжевой суспензии, поступающей на вакуум-выпарную установку, составит:

$$\frac{1\,125,0 \cdot 100}{22\,362,1} = 5,0 \%$$

Вакуум-выпаривание фугата дрожжевой суспензии

Фугат дрожжевой суспензии поступает на вакуум-выпарную установку, где происходит его концентрирование до содержания сухих веществ порядка 30 %. Количество упаренного концентрата фугата дрожжевой суспензии, поступающей в смеситель, составит:

$$\frac{1\,125,0 \cdot 100}{30} = 3\,750,0 \text{ кг/ч}$$

Количество испаренной влаги (конденсата пара) при выпаривании, составит:

$$22\,362,1 - 3\,750,0 = 18\,612,1 \text{ кг/ч}$$

Сушка кормовых дрожжей

Получаемые в ходе технологического процесса производства кормовых дрожжей полупродукты - осадок с центрифуги и концентрат с вакуум-выпарной установки - поступают в смеситель сушильной установки. Количество полупродуктов, поступающих в смеситель сушки, составит:

$$2\,500,0 + 3\,750,0 = 6\,250,0 \text{ кг/ч}$$

где: 2 500,0 – количество осадка с декантеров с содержанием сухих веществ 30 %, кг/ч;

3 750,0 – количество концентрата с вакуум-выпарной установки, с содержанием сухих веществ 30 %, кг/ч.

Количество сухих веществ в полупродуктах, поступающих на сушку в сушильную установку, составит:

$$750,0 + 1\,125,0 = 1\,875,0 \text{ кг/ч}$$

Массовая доля сухих веществ в полупродукте, поступающем на сушку в сушильную установку, составит:

$$\frac{1\,875,0 \cdot 100}{6\,250,0} = 30 \%$$

Количество сухих кормовых дрожжей, получаемых после высушивания в сушильной установке, составит с учетом влажности (не более 10 %):

$$\frac{1\,875,0 \cdot 100}{90} = 2\,083,3 \text{ кг/ч}$$

Количество испаренной влаги при сушке полупродуктов в сушильной установке, составляет:

$$6\,250,0 - 2\,083,3 = 4\,166,7 \text{ кг/ч}$$

Схема и сводная таблица материальных потоков производства кормовых дрожжей представлены на Рисунке 21 и Таблице 21.

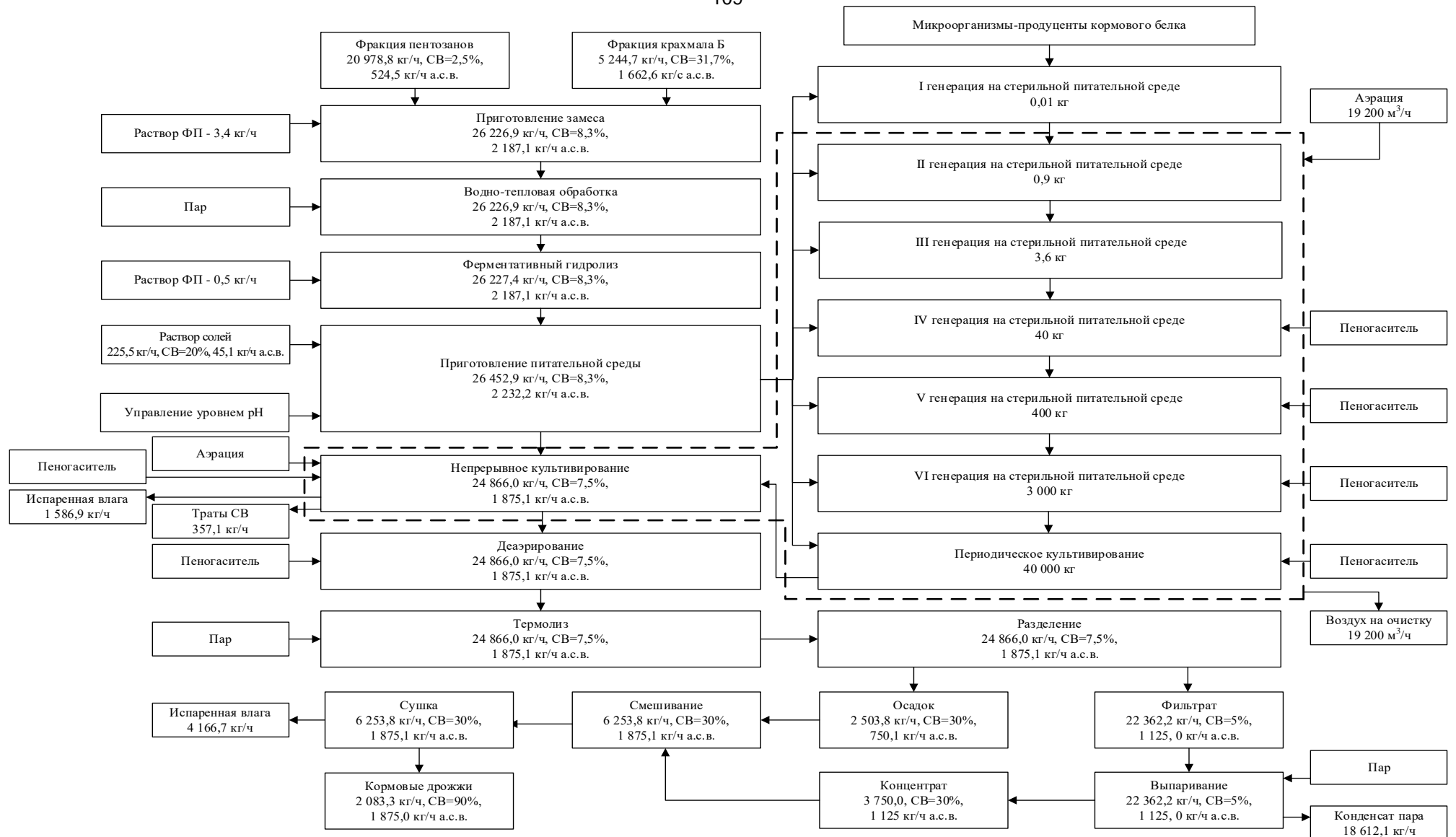


Рисунок 21 - Схема материальных потоков производства кормовых дрожжей

Таблица 21 – Сводная таблица материального баланса производства кормовых дрожжей из ВСП – фракции пентозанов и крахмала Б в соотношении 4:1

Наименование продукта	Количество продуктов (полупродуктов)		
	кг/ч	т/сут	% СВ
1	2	3	4
<i>Сырье:</i>			
- фракция пентозанов	20 978,8	503,5	2,5
- фракция крахмала Б	5 244,7	125,9	31,7
<i>ВТФО:</i>			
поступает в аппарат ГДФО			
а) Смесь ВСП	26 223,5	629,4	8,3
- в т.ч. сухих веществ	2 187,1	52,5	-
б) ФП, обладающий КС	0,3	0,007	-
ФП, обладающий АС	3,1	0,07	-
ФП, обладающий ГлС	0,5	0,012	-
Всего ФП	3,9	0,09	-
<i>Приготовление питательной среды:</i> поступает в сборник приготовления питательной среды			
а) Смесь ВСП	26 227,4	629,5	8,3
- в т.ч. сухие вещества	2 187,1	52,5	-
б) питательных солей в виде раствора (20 %)	225,5	5,4	20,0
- в т.ч. сухие вещества	45,1	1,1	
<i>Культивирование кормовых дрожжей:</i>			
Количество питательной среды поступает на культивирование:	26 452,9	634,9	8,3
- в т.ч. сухие вещества	2 232,2	53,6	
Количество воздуха, подаваемого на культивирования	19 200	460,8	-
Количество воздуха, уходящего при культивировании	19 200	460,8	-
Испаряется воды при дрожжегенерации	1 586,9	38,1	-
Траты сухих веществ при дрожжегенерации	357,1	8,6	-

Продолжение таблицы 21

1	2	3	4
Количество КЖ, поступающей на деаэрирование и далее на концентрирование: - в т.ч. сухие вещества	24 866,0 1 875,1	596,4 45,0	7,5 -
<i>Разделение дрожжевой суспензии</i> Образуется после разделения на декантерах:			
а) осадка	2 503,8	60,1	30,0
- в т.ч. сухих веществ	750,1	18,0	-
б) фугата	22 362,2	536,7	5,0
- в т.ч. сухих веществ	1 125	27,0	-
<i>Выпаривание фугата дрожжевой суспензии</i> Поступает на вакуум-выпаривание фугата			
в т.ч. сухих веществ	22 362,2	536,7	5,0
Образуется после вакуум-выпаривания:	1 125,0	27,0	-
а) концентрата			
- в т.ч. сухих веществ	3 750,0	90,0	30,0
б) конденсата пара	1 125	27,0	-
	18 612,1	446,7	-
<i>Сушка полупродуктов</i>			
а) поступает на сушку:			
- осадок с центрифуги	2 503,8	60,1	30,0
в т.ч. сухих веществ	750,1	18,0	-
- концентрат с вакуум-выпарной установки	3 750,0	90,0	30,0
в т.ч. сухих веществ	1 125	27,0	-
Итого поступает на сушку	6 253,8	150,1	30,0
в т.ч. сухие вещества	1 875,1	45,0	
б) выходит из сушилки:			
- сухие кормовые дрожжи	2 083,3	50,0	90,0
в т.ч. сухие вещества	1 875,0	45,0	-
- испаренная влага	4 166,7	100,0	-

Таким образом, при производительности по сухим кормовым дрожжам, равной 50 тонн в сутки, возможна переработка 503,5 тонн фракции пентозанов, 125,9 тонн фракции крахмала Б с образованием 446,7 тонн конденсата пара с вакуум-

выпарной установки и 100 тонн испаренной в процессе сушки влаги. При этом суммарно расходуется 96,3 дм³ ФП, содержащих ксиланазную, α -амилазную и глюкоамилазную активности, 5,4 тонны 20 %-го раствора солей-источников азота и фосфора. Используется 460,8 тонн атмосферного воздуха, который после очистки возвращается в окружающую среду.

3.4 Разработка аппаратурно-технологической схемы получения протеиновых кормопродуктов

На основании, процессуальной схемы и материального баланса была создана аппаратурно-технологическая схема промышленного получения протеиновых кормопродуктов из ВСР глубокой переработки зерна.

Аппаратурно-технологические схемы технологии получения протеиновых кормопродуктов представлены в Приложениях Б-Д и предусматривают проведение всех процессов переработки ВСР или измельченных клубней топинамбура с получением КЖ кормовых дрожжей, ее деаэрирование, термолиз, сушку и упаковку. Описание приведено применительно к смеси фракции пентозанов и крахмала Б в соотношении 4 : 1 (смесь). Смесь после аппаратов ГДФО (1.1,2) по трубопроводу непрерывно подается насосом (2) в количестве от 25 до 30 т/ч последовательно на теплообменник (37) для предварительного нагрева КЖ после деаэратора (13.1,2), и далее в теплообменник (3), где смесь охлаждают до температуры от 35 до 38 °С. Охлажденная смесь поступает в сборник для приготовления питательной среды (4). В сборник питательной среды (4) одновременно поступают растворы питательных солей в количестве от 0,2 до 0,3 т/ч из расходного сборника (27). Температура питательной среды составляет от 35 до 38 °С.

При необходимости регулирования уровня рН в сборник питательной среды (4) предусмотрена автоматическая подача концентрированной серной кислоты из сборника (33) или аммиачной воды из сборника (21).

Приготовление раствора питательных солей осуществляют в сборнике (25), оснащенном перемешивающим устройством. Сухие соли задают в сборник (25) при

помощи конвейера (24). Полученный раствор перекачивают насосом (26) в расходный сборник (27), из которого раствор солей направляют насосом (28) в сборник для приготовления питательной среды (4).

Подготовленную питательную среду из сборника (4) насосом (5.2,3) направляют в количестве от 25 до 30 т/ч в дрожжерастильные аппараты (11). Периодически питательную среду из сборника (4) направляют насосом (5.1) в аппараты чистой культуры дрожжей: малый АЧК (6), большой АЧК (7), дрожжегенератор (9), в которых осуществляют выращивание чистой культуры дрожжей. Выращенные дрожжи в МАЧК (6) задают самотеком в БАЧК (7). Выращивание дрожжей в аппаратах чистой культуры осуществляют периодическим способом при температуре от 32 до 34 °С в МАЧК и от 34 до 36 °С в БАЧК, рН среды составляет от 5,0 до 5,5. Продолжительность выращивания дрожжей в МАЧК составляет от 12 до 14 ч, в БАЧК от 10 до 12 ч. Подачу воздуха в аппараты чистой культуры осуществляют от воздуходувки (39).

Выращенные дрожжи в БАЧК (7) задают насосом (8) в дрожжегенератор (9). Выращивание дрожжей в дрожжегенераторе осуществляют периодическим способом при температуре от 37 до 38 °С, рН среды составляет от 5,0 до 5,5. Продолжительность выращивания дрожжей в дрожжегенераторе составляет от 12 до 14 ч.

Выращенную чистую культуру дрожжей из дрожжегенератора (9) насосом (10) передают периодически в два параллельно работающие дрожжерастильных аппарата (11). Культивирование кормовых дрожжей в дрожжерастильных аппаратах (11) осуществляют непрерывным способом. Продолжительность выращивания кормовых дрожжей в дрожжерастильных аппаратах составляет порядка 8-10 ч при температуре от 37 до 38 °С и рН среды от 5,0 до 6,0.

Аэрирование дрожжей в АЧК и дрожжерастильных аппаратах осуществляют воздухом, подаваемым турбовоздуховками (36).

Приготовление водного раствора пеногасителя осуществляют в емкости (34), оснащенной перемешивающим устройством и змеевиком для подогрева. Приготовленный водный раствор пеногасителя из емкости (34) направляют насосом

(35) в циркуляционный контур, откуда автоматически дозируют в дрожжерастильные аппараты (11), дрожжегенератор (9) и деаэраторы (13).

В процессе культивирования кормовых дрожжей автоматически поддерживают рН культуральной среды в дрожжерастильных аппаратах (11) путем подачи серной кислоты из напорного бака серной кислоты (23) или аммиачной воды из сборника (21).

Серную кислоту из цистерны насосом (29) перекачивают в емкость для хранения (30). Из емкости для хранения серная кислота поступает в сборник (31), откуда ее с помощью воздуха от компрессора (32) направляют в напорные баки серной кислоты (23, 33).

Дрожжевая суспензия из дрожжерастильных аппаратов (11) по переточным линиям поступает в количестве от 25,5 до 30,5 т/ч в деаэратор (13) в виде пенно-жидкостной эмульсии. Периодически дрожжерастильные аппараты (11) поочередно освобождают с помощью насоса (12) и осуществляют их мойку и дезинфекцию.

Пену в деаэраторе (13) разрушают механически при помощи вакуумного насоса (14). При необходимости используют химические пеногасители.

Очистку воздуха, отводимого из дрожжерегератора (9) и дрожжерастильных аппаратов (11), осуществляют в скруббере (38).

Дрожжевую суспензию из деаэраторов (13) в количестве от 25,5 до 30,5 т/ч непрерывно подают насосом (15) в спиральный теплообменник (37), где происходит ее частичный подогрев теплом барды, и далее дрожжевую суспензию направляют в кожухотрубный теплообменник (16) для нагрева острым паром до температуры от 70 до 90 °С. Нагретая дрожжевая суспензия поступает в термолизатор (40), где ее выдерживают в течение от 45 до 50 мин. Из термолизатора (40) дрожжевую суспензию насосом (41) подают на стадию разделения.

С учетом практического опыта в малом и большом аппаратах чистой культуры, а также в дрожжегенераторе ($V=100 \text{ м}^3$) установлены барботажные системы, которые хорошо себя зарекомендовали при периодическом способе культивирования.

В дрожжерастильных чанах ($V=400 \text{ м}^3$) также применена барботажная система

аэрации лучевого типа, включающая 12 труб с отверстиями, расходящихся от центра емкости к стенкам.

Из термолизатора (40) дрожжевую суспензию насосом (41) подают на разделение на декантеры (42), где происходит разделение дрожжевой суспензии на фугат (фильтрат) и осадок – кек. Кек через продуктопровод (43) поступает на шнек возврата сухого продукта из сушилки (55).

Полученный фильтрат самотеком поступает в емкость фугата (44) откуда его направляют на выпаривание в вакуум-выпарную установку.

Процесс выпаривания осуществляют на пятиступенчатой выпарной установке. Выпарные аппараты-кипяильники 1, 2, 3, 4 и 5 ступеней вместе с сепараторами и циркуляционными насосами образуют контуры циркуляции. Оборудование контуров циркуляции вместе с конденсатором и вакуумным насосом образует выпарную установку.

Фугат самотеком поступает в емкости фугата (44), откуда его насосом (45) подают на сепаратор 3 ступени (46.10). Далее фугат поступает на циркуляционный насос (46.29), который направляет его на выпариватель 3 ступени (46.03), где осуществляют его нагревание. Нагретый фугат по стенкам стекает в нижнюю часть выпаривателя 3 ступени (46.03). Часть фугата поступает на сепаратор 3 ступени (46.10) для отделения чистого пара и направления его на выпариватель 4 ступени (46.04) в качестве теплоносителя. Часть фугата циркуляционный насос (46.29) подает на выпариватель 3 ступени, в котором происходит циркуляция фугата с одновременным его подогревом.

Часть фугата насосом (46.29) закачивают в выпариватель 4 ступени (46.04). Циркуляцию фугата с одновременным его подогревом в выпаривателе 4 ступени (46.04) осуществляют насосом (46.30). После нагрева фугат по стенкам стекает в нижнюю часть выпаривателя 4 ступени (46.04), а часть фугата поступает в сепаратор 4 ступени (46.11). В процессе теплообмена пар, содержащий взвеси частиц фугата, поступает в сепаратор 4 ступени (46.11), и после очистки, пар направляют в выпариватель 5 ступени (46.05) в качестве теплоносителя. Часть фугата через циркуляционный насос (46.30) поступает в выпариватель 4 ступени (46.04), в

котором происходит циркуляция фугата с его одновременным подогревом. Часть фугата насосом (46.30) подают на выпариватель 5 ступени (46.05), в котором происходит циркуляция фугата с одновременным его подогревом.

Часть фугата насосом (46.29) подают в выпариватель 5 ступени (46.04). Циркуляцию фугата с одновременным его подогревом в выпаривателе 5 ступени (46.04) осуществляют насосом (46.30). После нагрева фугат по стенкам стекает в нижнюю часть выпаривателя 5 ступени (46.05), а часть фугата поступает в сепаратор 5 ступени (46.12). В процессе теплообмена пар, содержащий взвеси частиц фугата, поступает на поверхностный конденсатор (46.07), из которого конденсат направляют в резервуар для конденсата (46.17).

Часть фугата насосом вывода сырья (46.32) закачивают в выпариватель 5 ступени (46.05), в котором происходит циркуляция фугата с его подогревом. Затем фугат насосом (46.32) подают в подогреватель (46.06) для нагрева. После нагрева фугат проходит через циркуляционный насос (46.27).

Фугат из нижней части выпаривателя 1 ступени (46.01) подают в верхнюю часть выпаривателя 1 ступени (46.01) для подогрева. После подогрева фугат по стенкам стекает в нижнюю часть выпаривателя 1 ступени (46.01). Часть фугата подают на сепаратор 1 ступени (46.08). В процессе теплообмена пар со взвесями поступает на выпариватель 2 ступени (46.02) и подогреватель фугата (46.06), в качестве теплоносителя.

Часть фугата подают на сепаратор 2 ступени (46.09) и затем на циркуляционный насос (46.28), который подает его на выпариватель 2 ступени для подогрева. После подогрева фугат поступает на сепаратор 2 ступени (46.09). В процессе теплообмена пар со взвесями поступает на выпариватель 4 ступени (46.04) в качестве теплоносителя. Если концентрация продукта при выходе с насоса (46.28) соответствует требованиям, то его направляют в емкость концентрата (46.20). Если концентрация продукта на выходе с насоса (46.28) не соответствует требованиям, то его циркуляционным насосом (46.29) перекачивают обратно на дополнительное циркулирование и выпаривание в выпарной установке. Концентрат из емкости концентрата (46.20) насосом (46.40) перекачивают на участок сушки.

Острый пар (0,3-0,6 МПа) из котельной через трубопровод поступает на тепловой насос (46.26), где его смешивают со вторичным паром сепаратора 1 ступени (46.08) и направляют в качестве теплоносителя на выпариватель 1 ступени (46.01).

Вторичный пар сепаратора 1 ступени (46.08) поступает в выпариватель 2 ступени (46.02) и подогреватель (46.06) в качестве теплоносителя. Вторичный пар сепаратора 2 ступени (46.09) поступает в выпариватель 4 ступени (46.04) в качестве теплоносителя. Вторичный пар из сушилки проходит через скруббер (46.13), затем поступает на выпариватель 3 ступени (46.03) в качестве теплоносителя. Неконденсированные пары через влагоотделитель (46.19) вытягиваются вентилятором отходящего пара с сушилки (46.38) и сбрасываются в атмосферу.

Вторичный пар сепаратора 4 ступени (46.11) поступает в выпариватель 5 ступени (46.05) в качестве теплоносителя. Вторичный пар сепаратора 5 ступени (46.12) конденсируется в поверхностном конденсаторе (46.07). Конденсат из сушилки поступает в испарительный резервуар (46.14), где под воздействием снижения давления и температуры образуется пар, который поступает в выпариватель 1 ступени (46.01) в качестве теплоносителя. Конденсат насосом (46.34) направляют в котельную.

Неконденсированные пары, которые образуются в выпаривателях 1-5 ступеней, сбрасывают вакуум-насосом (46.37) в атмосферу.

Конденсат выпаривателя 1 ступени поступает в выпариватель 2 ступени. Конденсат выпаривателя 2 ступени (46.02) и подогревателя (46.06) поступает в выпариватель 4 ступени (46.04). Конденсат выпаривателя 4 и 5 ступени, поверхностного конденсатора (46.07) поступает в резервуар (46.17). Конденсат выпаривателя 3 ступени, влагоотделителя (46.19), поступает в резервуар для конденсата (46.16). Моющая вода скруббера (46.13) поступает в резервуар (46.16). Конденсат с резервуара (46.17) подают насосом конденсата (46.33) в емкость конденсата (46.24).

Конденсат из емкости (46.24) насосом (46.43) подают на сепараторы для их мойки, или в емкость кислоты (46.23), или в емкость щелочи (46.22) для

смешивания, после чего смесь подают насосом (46.43) в систему выпарки для мойки.

После мойки выпарной установки отходящую воду насосом (46.36) перекачивают на очистные сооружения.

Охлаждающую воду насосом (46.41) подают на поверхностный конденсатор (46.07). Нагретая вода с конденсатора попадает обратно в градирни (46.21) для охлаждения. Для промывки скруббера насос (46.35) подает на него промывочную воду из резервуара для скруббера (46.15), которую после промывки возвращают обратно в резервуар (72.15).

Упаренный концентрат с содержанием сухих веществ от 30 до 35 % из емкости (46.20) насосом (46.40) подают на шнек возврата (55), куда одновременно поступает кек с декантеров и часть сухого продукта с влажностью от 8 до 10 % с сушилки (49). Шнек направляет кек и упаренный концентрат в скоростной смеситель (47). Смесь полупродуктов с влажностью 40 - 45 % из смесителя (47.01) с помощью шнека направляют в сушилку (49). Время нахождения продукта в сушильной камере составляет от 45 до 60 минут. После сушки продукт с влажностью от 8 до 10 % через шнек вывода сырья (53) поступает на дробилку (54), а часть сухого продукта шнеком (53) направляют на шнек возврата (55) для смешивания с влажным кеком и упаренным концентратом. Вторичный пар из сушилки поступает в циклон (50) для удаления пыли, которую через шлюзовой затвор (51) возвращают на шнек (55). Вторичный пар через вентилятор (52) поступает на скруббер (46.13).

Острый пар (0,3-0,6 МПа) для сушилки подают из котельной. Конденсат пара из сушилки поступает в испарительный резервуар (46.14).

После дробилки сухой продукт (кормовые дрожжи) поступает в трубопровод (57), где его сухим воздухом, поступающим из теплообменника (56), направляют в циклон 1 ступени (58). В циклоне происходит отделение воздуха и оседание сухого продукта в нижней конической части циклона, откуда его через шлюзовой затвор 1 циклона (62) направляют в емкость продукции. Отходящий воздух через переходник с циклона (59) поступает в циклон 2 ступени (60) для улавливания частиц пыли. Осевшая во 2 циклоне пыль кормовых дрожжей через шлюзовой затвор 2 ступени

(63) поступает в емкость продукта, а отходящий воздух направляют в вентилятор для пневмотранспорта (61). Очищенный воздух сбрасывают в атмосферу.

Кормовые дрожжи из емкости готового продукта (64), оборудованной вибратором (65) для периодического встряхивания продукта, поступают в дозировочные машины (66) для упаковки в мешки. Мешки зашивают с помощью швейной машины (67) и по ленточному транспортеру (68) направляют на склад.

Разработанная ресурсосберегающая технология получения протеиновых кормопродуктов на основе вторичных сырьевых ресурсов внедрена на ООО «Этилацетат» (Воронежская обл., п.г.т. Анна). Мощность производства по протеиновому кормопродукту составляет 50 т в сутки. Акт производственных испытаний приведен в Приложении Е.

Для цеха протеиновых продуктов на ООО «Этилацетат» разработан комплект документации, включающий в себя:

- Технические условия Дрожжи кормовые «Аннинские» ТУ 10.91.10-001-77884989-2018 (Приложение З);
- Постоянный технологический регламент производства дрожжей кормовых «Аннинские» из крахмалсодержащего сырья ПТР 10-194-18 (Приложение И);
- Технологическая часть проекта по разработке и созданию аппаратурно-технологического комплекса для производства сухих кормовых дрожжей (Приложение К).

3.5 Расчет техникоэкономических показателей производства протеиновых кормопродуктов

Оценку экономической эффективности разработанной технологии получения протеиновых кормопродуктов проводили для условий производственной мощности цеха получения кормовых дрожжей ООО «Этилацетат» (Воронежская область). Для расчета использовали следующие исходные данные:

- суточная норма производства сухих кормовых дрожжей – 50 т/сут.;
- фонд рабочего времени – 305 дней, с учетом праздников и плановой

остановки цеха для ремонтно-профилактических работ и одного санитарного дня в месяц;

- годовой объем производства в таком случае составит 15 250 т.

Расчет потребности и стоимости сырья и основных материалов на 1 тонну продукции представлен в Таблице 22, удельные расходы теплоэнергоресурсов в расчете на 1 т продукции представлены в таблице 23

Таблица 22 – Расчет потребности и затрат на основные материалы.

Наименование материалов	Норма расхода, на 1 т продукции, кг	Потребность на годовой объем производства, т	Стоимость за 1 т, тыс. р.	Стоимость основных материалов, тыс. р. в год
Пентозаны	10 070,0	153 567,5	-	-
Крахмал Б	2 517,5	38 391,9	0,1	1 525,0
Ферментные препараты	1,9	29,0	1 314,30	20 043,1
Минеральное питание	21,7	330,9	42,0	640,5

Таблица 23 – Показатели производства кормовых дрожжей на 1 т продукции

Показатели	Величина
Тепловая энергия, Гкал	2,7 – 3,0
Пар, т	5,4 – 6,0
Электроэнергия, кВт	500
Водопотребление, м ³	10
Стоки, м ³	20

Производственная стоимость протеиновых кормопродуктов может отличаться затратами на тепло и энергетические ресурсы, составляющие до 70 % и более в их себестоимости. Величина их стоимости зависит от региона их производства и времени года. Нормы выхода продуктов и их качество в

зависимости от вида перерабатываемого сырья принимаем одинаковыми.

В Таблице 24 приведены средние данные теплоэнергетических затрат и затраты на водопотребление и водоотведение при получении протеиновых кормопродуктов.

Таблица 24 – Затраты по теплоэнергетическим и водным ресурсам на производство 1 т протеинового кормопродукта

Показатель	Величина
Расход тепловой энергии, Гкал/т	2,85
Стоимость тепловой энергии, руб./Гкал	2 429,7
Затраты на тепловую энергию, руб./т	6 924,6
Расход электроэнергии, кВт/ч	500,0
Стоимость электроэнергии, руб./кВт	6,34
Затраты на электроэнергию, руб./т	3 170,0
Водопотребление, м ³ /т	10,0
Стоимость воды, руб./м ³	17,8
Затраты воду, руб./т	178,0
Стоки, м ³	20,0
Стоимость утилизации, руб./м ³	56,0
Затраты утилизацию, руб./т	1 120
Суммарные затраты по теплоэнергоресурсам, и воде, руб./т	11 392,6

В Таблице 25 приведены техноэкономические показатели производства протеиновых кормопродуктов.

На сегодняшний день стоимость кормовых дрожжей на западном рынке составляет порядка 30 000 рублей за 1 тонну. С учетом логистики и получения всех необходимых документов для использования данной кормовой продукции на отечественном рынке, их стоимость увеличится в несколько раз. Стоимость получаемой продукции, по разработанной технологии, составляет порядка 22 000 рублей, что выгодно отличает ее от конкурентов.

Таблица 25 – Техноэкономические показатели производства кормовых дрожжей

Показатели	Стоимость, руб/т	Затраты на годовой объем производства, тыс. руб
Вспомогательные материалы: ФП, питательные соли, упаковочные и смазочные материалы, реактивы, руб	328,0	5 002,0
Теплоэнергетические и водные ресурсы, руб	11 392,6	173 737,2
Штат сотрудников, чел	19,0	-
Зарботная плата на 1 человека, руб/мес	32 923,8	395,1
Фонд заработной платы, руб/мес	625 552,2	7 506,6
Объем производства:		
- в сутки, т	50,0	-
- в месяц, т	1 500,0	-
Доля зарплаты, руб/тонна	658,5	9 577,0
Производственная стоимость, руб/тонна	12 379,1	183 779,3
Рыночная стоимость, руб/тонна	22 000,0	335 500,0
*Прибыль от реализации 1 тонны, руб/тонна	9 620,9	151 720,7

* Без учета налога на прибыль.

На основании приведенных данных, при объеме годового производства 15 250 т протеиновой кормопродукции в виде кормовых дрожжей, ежегодная прибыль от реализации может составлять до 150 млн. руб, а рентабельность, по формуле 8 составит:

$$P = \frac{П * 100}{С} = \frac{9\,620,9 \cdot 100}{12\,379,9} = 77,7 \% \quad (8)$$

По результатам расчета экономической эффективности производство протеиновых кормопродуктов по разработанной технологии является высокорентабельным (77,7 %) и перспективным для применения ее в отрасли.

Капитальные затраты: 250-300 млн. рублей

Срок окупаемости: 2-2,5 года

3.6 Выводы по главе 3

1. На основе исходных данных была разработана процессуальная схема получения протеиновых кормопродуктов, позволяющая использовать в качестве сырья ВСР глубокой переработки сырья или альтернативные источники углеводов, например клубни топинамбура.

2. Разработаны режимы и параметры основных технологических процессов, направленных на получение сухой протеиновой кормопродукции.

3. Проведен расчет основных материальных потоков и разработана аппаратно-технологическая схема переработки фракции крахмала Б и пентозанов в соотношении 1:4, которая включает культивирование микроорганизмов-продуцентов кормового белка, деаэрацию, термолиз, разделение и сушку зрелой культуральной жидкости с получением сухой протеиновой кормопродукции.

4. Разработанная ресурсосберегающая технология внедрена в производство химической продукции на ООО «Этилацетат», в результате чего получен акт опытно-промышленных испытаний (Приложение Ж).

5. Рассчитан экономический эффект применительно к мощности производства по протеиновым кормопродуктам 50 т сутки в сутки. В результате установлена высокая рентабельность производства на уровне 77,7 %. Чистая прибыль при уровне производства 15 250 т сухой протеиновой кормопродукции в год составит до 170 млн. руб. Срок окупаемости, при уровне капитальных затрат на реализацию технологии порядка 250-300 млн руб., составит 1,5-2 года.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

1. Обобщены и систематизированы данные о производстве протеиновой кормопродукции. Приведены статистические данные о современном отечественном рынке кормопродуктов. Рассмотрен механизм метаболизма микроорганизмов-продуцентов кормового белка, выявлены параметры процесса культивирования, обеспечивающие эффективное накопление биомассы.

2. Исследован химический состав ВСП, образующихся при глубокой переработке зернового сырья (фракции крахмала Б и пентозанов, пшеничных отрубей, зерновой барды) и клубней топинамбура. Установлено, что все сырьевые ресурсы в разной степени удовлетворяют условиям приготовления питательных сред. Количество общих сухих веществ находится в диапазоне от 2,5 до 86,8 %, а содержание белков от 4,11 до 21,3 % на а.с.в., что позволяет использовать данные сырьевые ресурсы для приготовления композиций питательных сред, соответствующих рациональным условиям культивирования.

3. Разработаны и научно обоснованы режимы водно-тепловой обработки сырья с применением мультиэнзимного комплекса в составе: Viscoferm в дозировке 0,25 ед. КС/г сухих веществ и Lp-Hera в дозировке 4,5 ед. АС/г крахмала сырья - для увеличения эффективности экстракции полисахаридов сырья; при гидролизе применяли Saczyme Plus 2X в дозировке 9 ед. ГлС/г крахмала сырья для ВСП и Novozym 960 в дозировке 0,5 ед. INU/г сухих веществ для топинамбура.

4. Разработан рациональный состав питательной среды: фракции крахмала Б и пентозанов в соотношении 1 : 4, в которой содержится: 5,50 г/100 см³ углеводов, растворимых сухих веществ - 6,7 %, карбамида - 0,2 % к объему среды и 0,06 % к объему среды диаммоний фосфата; такой состав обеспечил необходимую продуктивность выбранных штаммов по содержанию белка в получаемом кормопродукте.

5. Обосновано применение как наиболее перспективных штаммов-продуцентов кормового белка: *Saccharomyces cerevisiae* RCAM 01137 и Y-3585,

Rhodosporidium diobovatum Rh. d-1 RCAM 01131, *Candida tropicalis CK-4*, которые эффективно ассимилируют углеводы ВСР и клубней топинамбура с интенсивным накоплением биомассы.

6. Определен химический состав полученного по разработанной технологии протеинового кормопродукта на основе ВСР, по содержанию протеина - до 49,4 % на а.с.в., белка (по Барнштейну) - до 40,2 % на а.с.в., аминокислот - лизина (2,85 % на а.с.в.), гистидина (2,29 % на а.с.в.), серина (5,12 % на а.с.в.), витамина В5 - 42,2 мг/100 г, превосходящего аналоги. Его энергетическая ценность составляет 188,3 ккал, что эквивалентно 1,3 кормовых единиц. Протеиновая кормовая продукция, полученная на основе смеси, состоящей из клубней топинамбура и фракции пентозанов содержит до 24,0 % белка (по Барнштейну) на а.с.в. Данный показатель является достаточно низкими в сравнении с другими средами. Однако данная протеиновая кормопродукция богата пищевыми волокнами и инулином, что увеличивает ее кормовую ценность и позволяет применять в качестве кормопродукта.

7. Разработана аппаратурно-технологическая схема получения протеинового кормового продукта из ВСР зерноперерабатывающих предприятий, которая реализована на ООО "Этилацетат" (Воронежская обл.). Мощность цеха производства кормовых дрожжей составляет до 50 тонн в сутки. Установлено, что рентабельность комплексной переработки зерна с получением протеиновых продуктов возрастает на 15 - 20 % (при себестоимости продукта около 12 000 рублей за одну тонну его рыночная цена 20 000 - 25 000 рублей).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Абрамова, И. М. Исследование биохимического состава топинамбура и получаемых на его основе этилового спирта и пищевых функциональных продуктов / И. М. Абрамова, М. В. Туршатов, В. А. Кривченко [и др.] // Биотехнология. - 2022. - Т. 38. - № 4. - С. 56-61.
2. Абрамова, И. М. Исследование биохимического состава топинамбура и получаемых на его основе этилового спирта и пищевых функциональных продуктов / И. М. Абрамова, М. В. Туршатов, В. А. Кривченко [и др.] // Биотехнология. – 2022. – Т. 38. - № 4. – С. 56-61.
3. Абрамова, И. М. Исследование химического состава пищевых ингредиентов, получаемых при переработке топинамбура на спирт / И. М. Абрамова, М. В. Туршатов, А. О. Соловьев [и др.] // Пищевая промышленность. – 2024. – № 3. – С. 47-51.
4. Азанова, А. А. Исследование свойств дрожжей - продуцентов кормового белка / А. А. Азанова, М. Д. Евдокимова, А. В. Виноградова // Химия. Экология. Урбанистика. – 2018. – Т. 2018. – С. 564-568.
5. Андреев, Н. Р. Системный подход к исследованиям глубокой переработки крахмалсодержащего сырья / Н. Р. Андреев, В. А. Бызов, Н. Д. Лукин // Пищевая промышленность. – 2023. – № 9. – С. 23-27.
6. Бакай, С. М. Биотехнология обогащения кормов мицелиальным белком / С. М. Бакай. – Киев : Урожай, 1987. – 168 с.
7. Белик, С. Н. Продукты микробного синтеза в решении проблемы белкового дефицита / С. Н. Белик, Е. В. Моргуль, В. В. Крючкова [и др.] // Восточно-Европейский научный журнал. – 2016. – Т. 7. - № 1. – С. 122-129.
8. Библый, К. И. Контроль параметров технологических процессов в животноводстве / К. И. Библый. - М. : Россельхозиздат, 1985. - С. 18-22
9. Брагина, М. С. Оптимизация состава производственной питательной среды для культивирования пекарских дрожжей / М. С. Брагина, Л. Х. Халимова, Ф. А. Прищепов // Интеграция науки и высшего образования в области био- и

органической химии и механики многофазных систем: Материалы II Всероссийской научной INTERNET-конференции. – Уфа: Государственное издательство научно-технической литературы «Реактив», 2003. - С. 28-30.

10. В 2021 году объем производства кормового белка вырос на 6 % [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://feedlot.ru/analitika/korma/v-2021-godu-obem-proizvodstva-kormovogo-belka-vyiros-na-6> (дата обращения 06.06.2023).

11. Васильева, Е. А. Использование добавок из топинамбура для расширения ассортимента продукции / Е. А. Васильева // Хранение и переработка сельхозсырья. – 2007. – № 1. – С. 51–54.

12. Виноградова, А. В. Использование кормовых дрожжей для переработки предгидролизата сульфат-целлюлозного производства: дис. ... канд. тех. наук: 03.00.07. АООТ «Пермский НИИЦБП «Лигнокор», Пермь, 2001. – 133 с.

13. ГОСТ EN 14164-2014 Продукты пищевые. Определение витамина В₆ с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии. - М.: Стандартинформ, 2016. – 18 с.

14. Гинзбург, А. С. Сушка пищевых продуктов в кипящем слое / А. С. Гинзбург, В. А. Резчиков. - М. : Пищевая промышленность, 1966. - 196 с.

15. Гинзбург, А. С. Технология сушки пищевых продуктов / А. С. Гинзбург. - М. : Пищевая промышленность, 1976. - 248 с.

16. Гольдштейн, В. Г. Побочные продукты крахмалопаточного производства - кормовые компоненты / В. Г. Гольдштейн, Н. Д. Лукин, О. И. Радин // Комбикорма. – 2018. – № 7-8. – С. 54-56.

17. ГОСТ 32195-2013 Корма, комбикорма. Метод определения содержания аминокислот. - М. : Стандартинформ, 2020. – 24 с.

18. ГОСТ 32201-2013 (ISO 13904:2005) Корма, комбикорма. Метод определения содержания триптофана. - М. : Стандартинформ, 2014. – 16 с.

19. ГОСТ 32933-2014 (ISO 5984:2002) Корма, комбикорма. Метод определения содержания сырой золы. – М. : Стандартинформ, 2020. – 12 с.

20. ГОСТ EN 14122-2013 Продукты пищевые. Определение витамина В₁ с помощью высокоэффективной жидкостной хроматографии. - М. : Стандартинформ, 2014. – 23 с.
21. ГОСТ ISO 734-1-2016 Жмыхи и шроты. Определение содержания сырого жира. – М. : Стандартинформ, 2019. – 11 с.
22. ГОСТ Р 57221-2016 Дрожжи кормовые. Методы испытаний. - М. : Стандартинформ, 2016. – 57 с.
23. Готовая продукция на конец периода с 2020 г. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.fedstat.ru/indicator/59590> (дата обращения 12.05.2022).
24. Гут, Б. М. Откорм крупного рогатого скота на барде / Б. М. Гут, В. Г. Мельников. - М. : Колос, 1984. – 128 с.
25. Дегтярев, И. А. Белковые препараты из отходов переработки рапса: обзор современного состояния и перспектив развития существующих технологий / И. А. Дегтярев, И. А. Фоменко, А. А. Мижева [и др.] // Пищевые системы. – 2023. – Т. 6, № 2. – С. 159-170.
26. Джураев, Х. Ф. ИК-конвективная сушка сельхозпродуктов / Х. Ф. Джураев, И. И. Мехмонов, Д. Н. Хикматов // Хранение и переработка сельхозсырья. - 2001. - № 7. - С. 20-22.
27. Драганов, И. Ф. Откорм сельскохозяйственных животных на барде и пивной дробине / И. Ф. Драганов. - М. : ВНИИТЭИ агропром, 1998. – 43 с.
28. Жайлаубаев, Д. Т. Научные основы разработки совмещенных процессов сушки и измельчение животных кормов: дис. ... докт. техн. наук. МТИПП, Москва, 1991. - 403 с.
29. За пять лет стоимость комбикормов в России выросла на 50% [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://feedlot.ru/analitika/korma/za-pyat-let-stoimost-kombikormov-v-rossii-vyiroslo-na-50> (дата обращения 21.01.2023).
30. Зафрен, С. Я. Технология приготовления кормов. Справочное пособие / С. Я. Зафрен. - М. : Колос. 1977.- 240 с.
31. Захарова, И. И. Топинамбур – ценная культура для функционального питания / И. И. Захарова // Агропродовольственная экономика. - 2022. - №1. - С. 7-

13.

32. Информация о социально-экономическом положении России [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://rosstat.gov.ru/storage/mediabank/6WHhWc1N/oper-12-2020.pdf> (дата обращения 19.09.2022).

33. Калашников, А. П. Нормы и рационы кормления сельскохозяйственных животных / А. П. Калашников, Н. И. Клейменов, В. Н. Баканов [и др.]. - М. : Агропромиздат, 1985. – 352 с.

34. Калашников, А. П. Справочник зоотехника / А. П. Калашников. - М. : Агропромиздат, 1985. – 479 с.

35. Камилов, Х. Ч. Безотходная переработка клубней и зелёной массы топинамбура / Х. Ч. Камилов, М. А. Исмоилова // Вестник технологического университета Таджикистана. - 2019. - Т. 36. - № 1. - С. 41-46.

36. Карпухин, Н. М. Основные виды кормов. Классификация кормов / Н. М. Карпухин, Л. В. Гринец // Вклад молодых ученых в развитие АПК : Сборник тезисов Всероссийской научно-практической конференции студентов, аспирантов и молодых ученых. – Екатеринбург : Уральский государственный аграрный университет, 2021. – С. 26-27.

37. Каталог микроорганизмов: *Rhodospiridium diobovatum* [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://vkpm.genetika.ru/katalog-mikroorganizmov/show30841/> (дата обращения 04.08.2021).

38. Клещев, Н. Ф. Общая промышленная биотехнология: технология бродильных производств: Учеб. пособие / Н. Ф. Клещев, М. П. Бенько. – Харьков : НТУ «ХПИ», 2007. – 200 с.

39. Кокиева, Г. Е. Разработка технологии и аппарата для культивирования кормовых дрожжей сельскохозяйственного назначения: дис. ... канд. тех. наук: 05.20.01. Восточно-Сибирский гос. тех. университет, Улан-Удэ, 2006. – 145 с.

40. Кольман, Я. Наглядная биохимия / Я. Кольман, К.-Г. Рём ; пер. с англ. Т. П. Мосоловой. - М. : Лаборатория знаний, 2019.— 509 с.

41. Кононенко, В. В. Анализ процессов производства спирта в условиях ресурсосберегающих технологий, обеспечивающих сокращение эксплуатационных затрат и выхода барды / В. В. Кононенко, М. В. Туршатов, В. П. Леденев [и др.] // Современные биотехнологические процессы, оборудование и методы контроля в производстве спирта и спиртных напитков: сборник научных трудов. – Москва : ФГБУН «ФИЦ питания и биотехнологии», 2017. – С. 66-74.
42. Кормовая отрасль в новой реальности. [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://www.agroinvestor.ru/analytics/article/33817-kormovaya-otrasl-v-novoy-realnosti-kak-rasprostranenie-koronavirusa-vliyaet-na-rynok/> (дата обращения 15.05.2023).
43. Кочнев, Н. К. Топинамбур – биоэнергетическая культура XXI века / Н. К. Кочнев, М. В. Калиничева. – М. : Арес, 2002. – 76 с.
44. Красников, В.В. Кондуктивная сушка / В. В. Красников. - М. : Энергия, 1973. — 288 с.
45. Крикунова, Л. Н. Пектиновые вещества топинамбура: содержание, распределение по анатомическим частям, свойства / Л. Н. Крикунова, М. В. Гернет, Д. В. Чечеткин // Хранение и переработка сельхозсырья. – 2006. – № 5. – С. 50–54.
46. Крикунова, Л. Н. Энерго- и ресурсосберегающая технология этанола из топинамбура I. Сравнительная характеристика способов подготовки сырья к сбраживанию / Л. Н. Крикунова, М. М. Александрова // Хранение и переработка сельхозсырья. – 2000. – № 6. – С. 64–67.
47. Крикунова, Л. Н., Некоторые аспекты производства дистиллята из клубней топинамбура. Часть 1. Динамика распределения летучих компонентов при дистилляции сброженного суслу / Л. Н. Крикунова, В. А. Песчанская, Е. В. Дубинина // Техника и технология пищевых производств. – 2017. - №1(44). – С. 17-23.
48. Кузнецов, И. Н. Комплексная микробиологическая переработка послеспиртовой барды с получением белоксодержащего кормового продукта / И. Н. Кузнецов, Н. С. Ручай // Современные проблемы науки и образования. – 2013. – № 3. – С. 27.

49. Кузьмичева, Т. П. Культивирование продуцента молочной кислоты *Lactiplantibacillus plantarum* subsp. *Plantarum* на среде с кукурузным экстрактом / Т. П. Кузьмичева, Е. А. Мариничева, И. А. Фоменко, И. Д. Бельский // Известия высших учебных заведений. Пищевая технология. – 2022. – № 4(388). – С. 41-46.
50. Куликов, Д. С. Комплексная биотехнологическая переработка гороховой муки с получением белковых концентратов: дисс. ... канд. тех. наук: 4.3.5. ВНИИК – филиал ФГБНУ «ФИЦ картофеля им. А.Г. Лорха», Москва, 2023. – 136 с.
51. Кунилова, Т. М. Анализ существующих типов оборудования и технологий сушки / Т. М. Кунилова // Процессы и аппараты пищевых производств. – 2008. – № 1. – С. 28-36.
52. Логвинова, Т. И. Изучение свойств штаммов дрожжей, в качестве микробиологических продуцентов кормового белка / Т. И. Логвинова, Е. Н. Колодина, О. А. Артемьева [и др.] // Актуальные проблемы гуманитарных и естественных наук. – 2016. – № 12-1. – С. 57-61.
53. Лукин, Н. Д. Выход побочных кормовых продуктов при переработке сырья на крахмал / Н. Д. Лукин // Кормопроизводство. – 2010. – № 12. – С. 34-37.
54. Лукин, Н. Д. Гидролиз инулина ферментным препаратом эндоинулиназы марки «Новозим 960» для производства олигофруктозы / Н. Д. Лукин, Т. С. Пучкова, Д. М. Пихало [и др.] // Достижения науки и техники АПК. - 2020. - Т. 34. - № 6. - С. 89–91.
55. Лукин, Н. Д. Зерновой экстракт как сырье для получения кормовых добавок / Н. Д. Лукин, В. Г. Гольдштейн, Р. В. Уланова, И. К. Кравченко // Хранение и переработка сельхозсырья. – 2015. – № 12. – С. 6-10.
56. Лукин, Н. Д. Совместимые технологии производства кормовых и пищевых добавок из побочных продуктов картофелекрахмальных заводов и биомассы трав / Н. Д. Лукин, В. Л. Кудряшов, Д. Н. Лукин // Достижения науки и техники АПК. – 2015. – Т. 29. - № 11. – С. 112-114.
57. Максимова, Ю. Г. Биоресурсы и биотехнологии. Основы биотехнологии: учеб. пособие / Ю. Г. Максимова, А. Ю. Максимов, Пермь: ПГНИУ, 2019. – 104 с.

58. Менькин, В. К. Влияние нитратов кормов на качество продукции животных / В. К. Менькин, Н. П. Буряков, В. А. Боев [и др.] // Интенсификация лугопастбищного хозяйства: Сборник научных трудов. – М. : Агропромиздат, 1989. – 157 с.

59. Минсельхоз ожидает умеренной ценовой динамики на продовольственном рынке в 2021 году [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://mcx.gov.ru/docs/65870/> (дата обращения 22.07.2022).

60. Мухачев, С. Г. Повышение производительности цеха кормовых дрожжей, перерабатывающего послеспиртовую барду / С. Г. Мухачев, В. М. Емельянов, И. С. Владимирова [и др.] // Вестник Казанского технологического университета. – 2004. – № 2. – С. 147-155.

61. Мухленов, И. П. Общая химическая технология: Учеб. Для химико-техн. Спец. Вузов. В 2-х т. Т. 2. Важнейшие химические производства / И. П. Мухленов, А. Я. Авербух, Д. А. Кузнецов [и др.]; Под ред. И. П. Мухленова. – 4-е изд., перераб. и доп. – М. : Высш. Шк., 1984. – 263 с.

62. Никанова, Д. А. Изучение микроорганизмов как продуцентов кормовых и биологически активных веществ / Д. А. Никанова, М. В. Довыденкова // Ветеринария и кормление. – 2019. – № 6. – С. 35-36.

63. Оганесянц, Л. А. Технико-экономическое обоснование перспектив производства спиртных напитков из топинамбура / Л. А. Оганесянц, В. А. Песчанская, В. П. Осипова // Хранение и переработка сельхозсырья. - 2016. - № 4. - С. 5-7.

64. Патент № 2478701 С2 Российская Федерация, МПК С12N 1/16, С12N 1/18, С12P 21/00. Штамм дрожжей *saccharomyces cerevisiae*, обладающий амилазной активностью для получения кормового белкового продукта, и способ производства кормового белкового продукта: № 2011109853/10: заявл. 16.03.2011: опубл. 10.04.2013 / Г. И. Воробьева, А. Е. Сычев, А. И. Заикина [и др.]; заявитель ОАО "ГосНИИСинтезбелок".

65. Поляков, В. А. Инструкция по технoхимическому и микробиологическому контролю спиртового производства / В. А. Поляков, И. М. Абрамова, Г. В. Пoльгалина [и др.]. - М. : ДеЛи принт, 2007. - 480 с.

66. Пристач, Н. В. Организация полноценного кормления сельскохозяйственных животных: краткий курс лекций для аспирантов направления подготовки 36.06.01 Ветеринария и зоотехния, программа подготовки "Кормoпроизводство, кормление сельскохозяйственных животных и технология кормов" / Н. В. Пристач, Л. Н. Пристач. – С.-Пб. : Санкт-Петербургский государственный университет ветеринарной медицины, 2020. – 125 с.

67. Производство кормов и кормовых добавок в России по итогам 2022 года [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://feedlot.ru/analitika/korma/proizvodstvo-kormov-i-kormovyix-dobavok-v-rossii-po-itogam-2022-goda> (дата обращения 21.03.2023).

68. Римарева, Л. В. Рациональное использование отходов и вторичных сырьевых ресурсов спиртовой отрасли в технологии кормовых дрожжей / Л. В. Римарева, Т. И. Лозанская, Н. М. Худякова // Экология промышленного производства. – 2007. – № 4. – С. 32-34.

69. Российский рынок кормов и кормовых добавок в 2022 году [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://sfera.fm/articles/korma/rossiiskii-rynok-kormov-i-kormovykh-dobavok> (дата обращения 12.01.2023).

70. Руководство по методам контроля качества и безопасности биологически активных добавок к пище (Р 4.1.1672-03). - М. : Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004. - 240 с.

71. Рынок кормов [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://research-center.ru/rynok-kormov/> (дата обращения 16.05.2023).

72. Сахарная энциклопедия [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://sugar.ru/node/989> (дата обращения 17.12.2023).

73. Серба, Е. М. Биотехнология получения белково-аминокислотных корректоров кормов с использованием отходов перерабатывающих отраслей АПК / Е. М. Серба, М. Б. Оверченко, Л. В. Римарева Л.В. [и др.] // В сборнике: Научное

обеспечение животноводства Сибири: ФГБНУ Красноярский НИИЖ, 2016. - С. 20-24.

74. Скурихин, И. М. Таблицы химического состава и калорийности российских продуктов питания: Справочник / И. М. Скурихин, В. А. Тутельян. - М. : ДеЛи принт, 2007. - 276 с.

75. Славянский, А. А. Инновационные решения в производстве крахмала и крахмалопродуктов / А. А. Славянский, Н. Д. Лукин. - М. : Общество с ограниченной ответственностью "Русайнс", 2023. - 420 с.

76. Соколов, В. А. Нефть / В. А. Соколов. - М. : Недра. 1970. - 384 с.

77. Туршатов, М. В. Техничко-экономические аспекты получения спирта из вторичных сырьевых ресурсов, образуемых при комплексной переработке пшеницы / М. В. Туршатов, В. П. Леденев, В. В. Кононенко [и др.] // Производство спирта и ликероводочных изделий. - 2015. - № 1. - С. 33-35.

78. Уланова, Р. В. Новое использование побочных продуктов спиртовой промышленности / Р. В. Уланова, И. К. Кравченко, В. В. Колпакова [и др.] // Хранение и переработка сельхозсырья. - 2017. - № 11. - С. 34-37.

79. Урбанчик, Е. Н. Разработка условий проращивания зерна пшеницы с внесением ферментных препаратов / Е. Н. Урбанчик, Л. И. Сапунова, М. Н. Галдова [и др.] // Техника и технология пищевых производств : материалы XII международной научно-технической конференции. - Могилев : Могилевский государственный университет продовольствия, 2018. - С. 147-148.

80. Усанова, З. И. Изменение содержания фруктозанов в клубнях топинамбура при хранении / З. И. Усанова, Т. И. Смирнова, А. К. Осербает [и др.] // Вестник ТпГУ. Серия «Химия». - 2012. - № 13. - С. 66-70.

81. Фертман, Г. И. Технохимический контроль бродильных производств / Г. И. Фертман, М. И. Шойхет. - М. : Пищевая промышленность, 1969. - 356 с.

82. Фоменко, И. А. Биоконверсия растительных отходов в кормовые и пищевые дрожжевые препараты / И. А. Фоменко, Г. М. Керимова // Новые технологии. - 2022. - Т. 18(1). - С. 78-85.

83. Фоменко, И. А. Дрожжи и ингредиенты на их основе в технологии пищевых продуктов / И. А. Фоменко, Г. М. Керимова // Технологии пищевой и перерабатывающей промышленности АПК – продукты здорового питания. – 2021. – № 2. – С. 132-138.
84. Фоменко, И. А. Комплексная биоконверсия подсолнечной лузги в препараты кормового и пищевого назначения: дисс. ... канд. тех. наук 05.18.07. ФГБОУ ВО «МГУПП», Москва, 2022. – 158 с.
85. Фоменко, И. А. Получение белкового концентрата из дрожжевой биомассы *Kluveromyces marxianus* Van der Walt (1965) / И. А. Фоменко, И. А. Дегтярев, Л. А. Иванова, Н. Г. Машенцева // Сельскохозяйственная биология. – 2021. – Т. 56. - № 6. – С. 1172-1182.
86. Фоменко, И. А. Разработка способа активации продуцентов в Технологии целлюлолитических ферментных препаратов / И. А. Фоменко, Л. А. Иванова, Т. П. Кузьмичева [и др.] // Естественные и технические науки. – 2021. – № 4(155). – С. 60-64.
87. Фоменко, И. А. Скрининг дрожжевых культур как потенциальных продуцентов полноценного белка на отходах масличного производства / И. А. Фоменко, А. А. Мижева // XXI век: итоги прошлого и проблемы настоящего плюс. – 2021. – Т. 10. - № 4(56). – С. 132-137.
88. Фоменко, И. А. Утилизация целлюлозосодержащих отходов при помощи грибов / И. А. Фоменко, С. Н. Тучкова // Новые технологии. – 2021. – Т. 17. - № 5. – С. 123-133.
89. Фремель, В. Б. Витаминный и аминокислотный состав зерно-картофельной барды / В. Б. Фремель. Э. П. Москвичева. - М. : Ферментная и спиртовая промышленность, 1968. - с. 12
90. Чечеткин, Д. В. Исследование процесса гидролиза фруктозанов топинамбура под действием собственных гидролаз сырья / Д. В. Чечеткин, Л. Н. Крикунова, Г. П. Карпиленко // Хранение и переработка сельхозсырья. – 2006. – № 4. – С. 43–46.
91. Чечеткин, Д. В. Пектинэстераза топинамбура: активность, свойства / Д.

В. Чечеткин, Г. П. Карпиленко, Л. Н. Крикунова // Производство спирта и ликероводочных изделий. – 2006. – № 3. – С. 18–20.

92. Чукуров, П. М. Сульфат аммония // Химическая энциклопедия : в 5 т. / Гл. ред. И. Л. Кнунянц. — М. : Советская энциклопедия, 1988. - Т. 1: А - Дарзана. - 623 с.

93. Шаззо, Р. И. Топинамбур: биология, агротехника выращивания, место в экосистеме, технологии переработки (вчера, сегодня, завтра): монография / Р. И. Шаззо, В. Г. Кайшев, Р. А. Гиш [и др.]. – Краснодар : Издательский Дом – Юг, 2013. - 184 с.

94. Шерстюк, С. И. Анализ отрасли кормопроизводства за 2021 год / С. И. Шерстюк // Современные технологии в кормлении животных и кормопроизводстве: Сборник трудов, приуроченных к Международной студенческой научно-практической конференции. – М. : ООО "Мегаполис", 2022. – С. 199-204.

95. Alter, N. Production and feeding of single cell protein / N. Alter, Z. Puhani. – London : Applied Science Publishers, 1983. – 224 p.

96. Anderson, C. The growth of microfungi on carbohydrates / C. Anderson, J. Longton, C. Maddix [et. al.]. - Cambridge MA : MIT Press, 1975. – 314 p.

97. AOAC 970.65 Riboflavin (Vitamin B₂) in Foods and Vitamine preparation. AOAC, 2017. - 3 p.

98. Aquaculture development programme. Fish feeds and feeding in developing countries. ADCP/REP/83/18 [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.fao.org> (дата обращения 21.05.2023).

99. Aransiola, E. F. Production of baker's yeast (*Saccharomyces cerevisiae*) from raw cassava starch hydrolyzates in a bioreactor under batch process / E. F. Aransiola, E. Betiku, O. A. Adetunji [et. al.] // Biotechnology. – 2005. – Vol. 5(1). – P. 98-103.

100. Bailey, J. E. Biochemical engineering fundamentals / J. E. Bailey, D. F. Ollis. - UK : Mac Graw Hill, 1986. - 1006 p.

101. Bamell, H. R. Biology and the food industry. Studies in biology / H. R. Bamell. – London : Edward Arnold Ltd, 1974. - 59 p.

102. Bamett, J. A. The utilization of disaccharides and some other sugars by yeasts

/ J. A. Bamett // *Advances in Carbohydrate Chemistry and Biochemistry*. – 1981. – Vol. 39. – P. 347-404.

103. Bum, V. J. Aspects of inorganic nitrogen assimilation in yeasts / V. J. Bum, P. R. Tumer, C. M. Brown // *Antonie van Leeuwenhoek*. – 1974. – Vol. 40. – P. 93-102.

104. Bunker, H. J. New foods / H. J. Bunker // *Food science and technology: material of Second International Conference*. – Warsaw, 1966. - P. 48-53.

105. Butshek, G. Zellstoffablaugen / G. Butshek // *Die Hefen*. – 1962. - Vol. 2. - P. 121-134.

106. Calcott, P. H. Continuous culture of cells. Vol. I / P. H. Calcott. - Boca Raton : CRC Press, 1981. – 195 p.

107. Cambridge scientific abstracts database [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.csal.co.uk> (дата обращения 22.03.2023).

108. Castrillo, J. I. A general model of yeast energy metabolism in aerobic chemostat culture / J. I. Castrillo, U. O. Ugalde // *Yeast*. – 1994. – Vol. 10. – P. 185-197.

109. Castrillo, J. I. Energy metabolism of *Kluyveromyces marxianus* in deproteinated whey. Chemostat studies. Modelling / J. I. Castrillo, U. O. Ugalde // *Journal of Biotechnology*. – 1992. – Vol. 22. – P. 145–152.

110. Castrillo, J. I. High-cell-density cultivation of yeasts on disaccharides in oxygen-limited batch cultures / J. I. Castrillo, J. Kaliterna, R. A. Weusthuis [et. al.] // *Biotechnology and Bioengineering*. – 1996. – Vol. 49. – P. 621-628.

111. Castrillo, J. I. Patterns of energy metabolism and growth kinetics of *Kluyveromyces marxianus* in whey chemostat culture / J. I. Castrillo, U. O. Ugalde // *Applied Microbiology and Biotechnology*. – 1993. – Vol. 40. – P. 386-393.

112. Castrillo, J. I. Proton production and consumption pathways in yeast metabolism. A chemostat culture analysis / J. I. Castrillo, I. De Miguel, U. O. Ugalde // *Yeast*. – 1995. – Vol. 1. - P. 1353-1365.

113. Cooney, C. L. Measurement of heat evolution and correlation with oxygen consumption during microbial growth / C. L. Cooney, D. I. C. Wang, R. I. Mateles // *Biotechnology and Bioengineering*. – 1969. – Vol. 11. – P. 269.

114. Cooney, C. L. Perspectives in biotechnology and applied microbiology / C. L.

Cooney. – London : Springer, 1986. – 388 p.

115. Cooney, C. L. Single-cell protein: engineering, economics and utilization in foods / C. L. Cooney, C. Rha, S. R. Tannenbaum // *Advances in Food Research*. - 1980. – Vol. 26. – P. 1-52.

116. Cooper, T. G. The molecular biology of the *Yeast Saccharomyces*. Vol. 2. Metabolism and gene expression / T. G. Cooper. - New York : Cold Spring Harbour Laboratory, 1982. – 751 p.

117. de la Broise, D. Osmotic, biomass and oxygen effects on the growth rate of *Fusarium oxysporum* using a dissolved oxygen-controlled turbidostat / D. de la Broise, A. Durand // *Biotechnology and Bioengineering*. – 1989. – Vol. 33. - P. 699-705.

118. Delbruck, M. *Illustriertes Brauerei-Lexikon* / M. Delbruck. – Berlin : Verlagsbuchhandlung Paul Parey, 1910. – 978 p.

119. Deneyer, A. Alkane production from biomass: Chemo-, bio- and integrated catalytic approaches / A. Deneyer, T. Renders, J. Van Aelst [et. al.] // *Current Opinion in Chemical Biology*. – 2015. – Vol. 29. – P. 40-48.

120. Difonzo, G. Inulin from globe artichoke roots: a promising ingredient for the production of functional fresh pasta / G. Difonzo, G. de Gennaro, G. R. Caponio [et al.] // *Foods*. - 2022. - Vol. 11 (19). – P. 3032-3049.

121. EU announces plans to relax GMO restrictions to help farmers adapt to climate change [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <https://newsrounds.econaiplus.com/eu-announces-plans-to-relax-gmo-restrictions-to-help-farmers-adapt-to-climate-change/> (дата обращения 04.08.2023).

122. Faust, U. Methanol as carbon source for biomass production in a loop reactor / U. Faust, W. Sittig // *Advances in Biochemical Engineering*. - 2005. - Vol. 17. - P. 63-99.

123. Ferrianti, M. P. Production and feeding of single cell protein / M. P. Ferrianti, A. Fiechter. – London : Applied Science Publishers, 1983. – 201 p.

124. Fiechter, A. *Methods in cell biology*. Vol. XI - Yeast cells / A. Fiechter. – London : Academic Press, 1975. – 359 p.

125. Flores, C. L. Carbohydrate and energy-yielding metabolism in non-conventional yeasts / C. L. Flores, C. Rodríguez, T. Petit [et. al.] // *FEMS Microbiology*

Reviews. – 2000. – Vol. 24(4). – P. 507-529.

126. Forage, A. J. Microbial Biomass. Economic Microbiology / A. J. Forage, R. C. Righelato. – London : Academic Press, 1979. – 289 p.

127. Gellissen, G. Heterologous protein production in methylotrophic yeasts / G. Gellissen // Applied Microbiology and Biotechnology. – 2001. – Vol. 54. – P. 741-750.

128. Hacking, A. J. Biotechnology / A. J. Hacking. – Cambridge : Cambridge University Press, 2009. – 266 p.

129. Harris, E. E. Food yeast production from wood processing by-products / E. E. Harris. – U. S. : United States Department of Agriculture, 1964. – 34 p.

130. Hayduck, F. Das problem der zymasebildung in der hefe / F. Hayduck // Z. Spiusind. – 1913. – Vol. 36. – P. 233-239.

131. Humpfrey, A. E. Single cell protein II / A. E. Humpfrey. – Massachusetts : MIT Press, 1975. – 416 p..

132. Jach, M. E. Yeast protein as an easily accessible food source / M. E. Jach, A. Serefko, M. Ziaja [et. al.] // Metabolites. – 2022. – Vol. 12(1). – P. 63-72.

133. Jarl, K. Symba yeast process / K. Jarl // Food Technology. – 1969. – Vol. 23. – P. 1009-1012.

134. Kalitema, J. Transient responses of *Candida utilis* to oxygen limitation: Regulation of the Kluyver effect for maltose / J. Kalitema, R. A. Weusthuis, J. I. Castrillo [et. al.] // Yeast. – 1995. – Vol. 11. – P. 317-325.

135. Kalk, J. P. Manual of industrial microbiology and biotechnology / J. P. Kalk, A. F. Langlykke. – Washington : American Society for Microbiology, 2010. – 766 p.

136. Kubitschek, H. E. Introduction to research with continuous cultures. Prentice Hall. Biological Techniques Series / H. E. Kubitschek. - New Jersey : Englewood, Clifs, 1970. – 195 p.

137. MacLennan, D. G. Continuous culture 6: applications and new fields / D. G. MacLennan. – London : Society of Chemical Industry, 1976. – 364 p.

138. Matsumura, M. Application of pure oxygen in a new gas entraining fermentor / M. Matsumura, K. Umemoto, K. Shinabe [et al.] // Journal of Fermentation Technology. – 1982. – Vol. 60. – P. 565-572.

139. Modica, V. Toxicological evaluation of protein powder derived from *Cupriavidus necator* / V. Modica, R. Glávits, T. Murbach [et. al.] // Journal of Applied Toxicology. – 2023. -Vol. 43(6). – P. 887-912.
140. Moebus, O. Production and feeding of single cell protein / O. Moebus, M. Teuber. – London : Applied Science, 1983. - 236 p.
141. Monod, J. Recherches sur la croissance des cultures bacteriennes / J. Monod. – Paris : Hermann, 1942. 210 p.
142. Moore D. Estimation of inhibition constants from colony growth rates of filamentous fungi / D. Moore // Transactions of the British Mycological Society. – 1974. - P. 193-198.
143. Moulin, G. Balanced flora of an industrial fermenter. Production of yeast from whey / G. Moulin, B. Malige, P. Galzy // Journal of Dairy Science. – 1983. – Vol. 66. – P. 21-28.
144. Nell, J. A. Comparison of some single cell proteins in the diet of the Sidney rock oyster (*Saccostrea commercialis*) / J. A. Nell // The Progressive Fish-Culturist. – 1985. – Vol. 47. – P. 110-146.
145. Oganesyants, L. A. Research of technological parameters and criteria for evaluating distillate production from dried jerusalem artichoke / L. A. Oganesyants, V. A. Peschanskaya, L. N. Krikunova, [et. al.] // Carpathian Journal of Food Science and Technology. – 2019. – Vol. 11(2). P. 185-196.
146. Olbrich, H. Biotin activity of molasses / H. Olbrich // Branntwein wirtschaft. - 1973. – Vol. 113. – P. 270-286.
147. Oura, E. Biomass from carbohydrates / E. Oura // Biotechnology. – 1983. - Vol. 3. - P. 3-17.
148. Peppier, H. J. Production of yeast and yeast products / H. J. Peppier // Microbial Technology. – 1979. - Vol. 1. - P. 157-169.
149. Peterson, W. H. Fodder yeasts from wood sugar / W. H. Peterson, E. E. Snell, W. C. Frazier // Industrial and Engineering Chemistry. - 1945. - Vol. 37. - P. 30-35.
150. Phaff, H. J. Biology of industrial microorganisms / H. J. Phaff. - USA : Benjamin Cummings Publishing Company, 1985. – 537 p.

151. Phaff, H. J. The life of yeasts / H. J. Phaff, M. W. Miller, E. M. Mrak. - Harvard University Press, 1978. – 341 p.
152. Pirt, S. J. An extension of the theory of the chemostat with feedback of organisms. Its experimental realization with a yeast culture / S. J. Pirt, W. M. Kurowski // The Journal of General Microbiology. - 1970. – Vol. 63. – P. 357-366.
153. Pirt, S. J. Principles of microbe and cell cultivation / S. J. Pirt - Oxford : Blackwell, 1975. – 274 p.
154. Ritzka, A. Fermentation monitoring and process control / A. Ritzka, P. Sosnitza, R. Ulber [et al.] // Current Pharmaceutical Biotechnology. – 1997. – Vol. 8 (2). – P. 160-164.
155. Riviere, J. Industrial applications of microbiology / J. Riviere. – Ohio : Surrey University Press, 1977. – 105 p.
156. Roon, R. J. Urea amydolysase. I. Properties of the enzyme from *Candida utilis* / R. J. Roon, B. Levenberg // Journal of Biological Chemistry. – 1972. – Vol. 247. – P. 4107-4113.
157. Rose, A. H. Microbial biomass. economic microbiology / A. H. Rose. – London : Academic Press, 1979. – 460 p.
158. Royce, P. N. A discussion of recent developments in fermentation monitoring and control from a practical perspective / P. N. Royce // Critical Reviews in Biotechnology. – 1993. – Vol. 13. - P. 117-149.
159. Rubel, I. A. Inulin from Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberosus* L.): From its biosynthesis to its application as bioactive ingredient / I. A. Rubel, C. Iraporda, G. D. Manrique [et al.] // Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre. - 2021. – Vol. 26. – Reg. № 100281.
160. Rubio-Teixeira, M. Highly efficient assimilation of lactose by a metabolically engineered strain of *Saccharomyces cerevisiae* / M. Rubio-Teixeira, J. I. Castrillo, A. C. Adam [et al.] // Yeast. - 1998. – Vol. 14. - P. 827-837.
161. Sak, S. Yeast / S. Sak // Danish patent. – 1919. – Vol. 28. – P. 507-519.
162. Salmon, J. M. Improvement of nitrogen assimilation and fermentation kinetics under enological conditions by derepression of alternative nitrogen-assimilatory pathways

in an industrial *Saccharomyces cerevisiae* strain / J. M. Salmon, P. Barre // *Applied and Environmental Microbiology*. – 1998. – Vol. 64(10). – P. 3831-3837.

163. Schulein, J. The brewer's yeast as a medicine and feeding stuff. / J. Schulein. – Dresden: Verlag Steinkopf, 1937. – 84 p.

164. Serba, E. M. Biomedical and biotechnological aspects of the production of functional ingredients based on yeast biomass / E. M. Serba, L. V. Rimareva, T. V. Yuraskina [et al.] // *IOP Conference Series: Earth and Environmental Science*, Volgograd, Vol. 848. – Krasnoyarsk: IOP Publishing Ltd, 2021. – Reg. № 12208.

165. Sinclair, C. G. Fermentation modelling / C. G. Sinclair, D. Cantero // *Fermentation. A practical approach*. - 1990. - P. 65-112.

166. Solomons, G. L. Single cell protein / G. L. Solomons, J. H. Litchfield // *Critical Reviews in Biotechnology*. – 1983. – Vol. 1(1). – P. 21–58.

167. Sonnleitner, B. *Advances in biochemical engineering and biotechnology* / B. Sonnleitner. – Berlin : Springer-Verlag, 1996. – 347 p.

168. Stanbury, P. F. *Principles of fermentation technology* / P. F. Stanbury, A. Whitaker, S. J. Hall. – Oxford : Butterworth-Heinemann, 2000. – 367 p.

169. Steinkraus, K. H. *Microbial biomass protein grown on edible substrates: the indigenous fermented foods* / K. H. Steinkraus. – London : Elsevier Applied Science, 1986. - Section I. – 33 p.

170. Suomalainen, H. Yeast nutrition and solute uptake / H. Suomalainen, E. Oora // *The Yeasts*. – 1971. - Vol. 2. - P. 3-74.

171. The BSE Inquiry: The Report [Электронный ресурс]. – Режим доступа: [https://discovery.nationalarchives.gov.uk/details/r/C351#:~:text=The%20Inquiry's%20report%20was%20published,vCJD\)%20and%20the%20action%20taken](https://discovery.nationalarchives.gov.uk/details/r/C351#:~:text=The%20Inquiry's%20report%20was%20published,vCJD)%20and%20the%20action%20taken) (дата обращения 13.07. 2022)

172. The general agreement on tariffs and trade [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.wto.org> (дата обращения 09.04.2023).

173. The state of food and agriculture [Электронный ресурс]. – Режим доступа: <http://www.fao.org> (дата обращения 06.04.2023).

174. Trinci, A. P. J. Evolution of the Quorn myco-protein fungus *Fusarium*

- graminearum* A3/5 / A. P. J. Trinci // Microbiology. - 1994. – Vol. 140. – P. 2181-2188.
175. Trinci, A. P. J. Myco-protein: a twenty-year overnight success story / A. P. J. Trinci // Mycological Research. – 1992. – Vol. 96 (1). – P. 1-13.
176. Ugalde, U. O. Single cell proteins from fungi and yeasts / U. O. Ugalde, J. I. Castrillo // Applied Mycology and Biotechnology. - 2002. – Vol. 2. – P. 123-149.
177. Upadhyaya, S. Microbes and environmental management / S. Upadhyaya, S. Tiwari, N. Arora [et. al.]. – USA : Studium Press, 2016. – 819 p.
178. Uzogara, S. G. The impact of genetic modification of human foods in the 21 century: A review / S. G. Uzogara // Biotechnology Advances. 2000. – Vol. 18. - P. 179-206.
179. Vicente, A. On-line estimation of biomass through pH control analysis in aerobic yeast fermentation systems / A. Vicente, J. I. Castrillo, J. A. Teixeira [et al.] // Biotechnology and Bioengineering. – 1998. – Vol. 58. - P. 445-450.
180. Visser, W. Oxygen requirements of yeasts / W. Visser, W. A. Scheffers, W. H. Vegte [et. al.] // Applied and Environmental Microbiology. - 1990. – Vol. 56. – P. 3785 - 3792.
181. von Schalien, R. Adaptative on-line model for aerobic *Saccharomyces cerevisiae* fermentation / R. von Schalien, K. Fagervik, B. Saxen [et al.] // Biotechnology and Bioengineering. - 1995. – Vol. 48. – P. 631-638.
182. Wang, H. Y. Manual of industrial microbiology and biotechnology / H. Y. Wang. - Washington D.C. : American Society for Microbiology, 1986. – 766 p.
183. Ward, O. P. Fermentation biotechnology: principles, processes and products / O. P. Ward. – Michigan : Open University Press, 1989. 227 p.
184. Webb, F. C. Biochemical engineering / F. C. Webb. - London : D. Van Nostrand Ltd., 1964. – 743 p.
185. Weitzel, W. The yeast, its nutritive and therapeutic value / W. Weitzel, M. Winchel. – Berlin : Verlag Rothgiese und Diesing, 1932. – 112 p.
186. White, J. Yeast technology / J. White. – London : Chapman & Hall, 1954. – 431 p.
187. Wolf, K. Nonconventional yeasts in biotechnology / K. Wolf. -Berlin :

Springer-Verlag, 1996. – 479 p.

188. Wyman, C Polysaccharides: structural diversity and functional versatility / C. Wyman, S. Decker, M. E. Himmel [et. al.]. – New York : Marcel Dekker, 2005. – 1224 p.

189. Yurimoto, H. Yeast methylotrophy: metabolism, gene regulation and peroxisome homeostasis / H. Yurimoto, M. Oku, Y. Sakai // International journal of microbiology. – 2011. - P. 1-8.

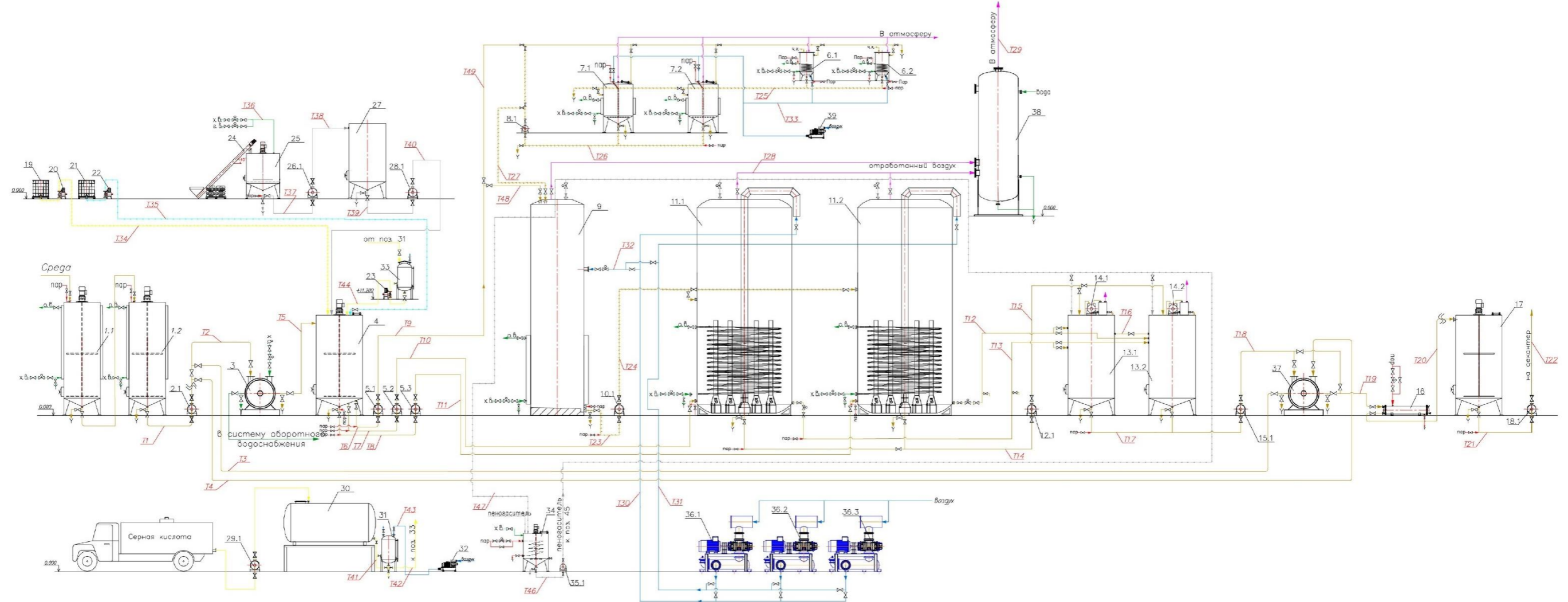
190. Zhang, X.-C. Functional state modelling and fuzzy control of fed-batch aerobic baker's yeast process / X.-C. Zhang, A. Visala, A. Halme [et al.] // Journal of Biotechnology. – 1994. – Vol. 37. – P. 1-14.

191. Zimbardy, P. Process optimization in bioconversion of lignocellulosics into ethanol / P. Zimbardy, E. Ricci, E. Viola [et. al.] // Materials of First World Conference on Biomass for Energy and Industry. – Sevilla, 2001. – P. 1525-1529.

ПРИЛОЖЕНИЯ**Приложение А****Список сокращений и условных обозначений**

- а.с.в. – абсолютно сухое вещество
- АС – амилолитическая активность
- АТФ – аденозинтрифосфат
- АЧК – аппарат чистой культуры
- БАЧК – большой аппарат чистой культуры
- БВМК – белково-витаминно-минеральные концентраты
- БМВД – белковые минерально-витаминные добавки
- БЭВ – безазотистые экстрактивные вещества
- ВМК – витаминно-минеральные концентраты
- ВСП – вторичные сырьевые ресурсы
- ВТФО – водно-тепловая и ферментативная обработка
- ГлС – глюкоамилазная активность
- ДА – дрожжерастильный аппарат
- ДГ – дрожжегенератор
- ДЭ – деаэратор
- КЖ – культуральная жидкость
- КС – ксиланазная активность
- МАЧК – малый аппарат чистой культуры
- РВ – редуцирующие вещества
- ФАО (англ. FAO - Food and Agriculture Organization) – Продовольственная и сельскохозяйственная организация ООН
- ФНТП – Федеральная научно-техническая программа развития сельского хозяйства на 2017-2030 годы
- CAGR (англ. Compound annual growth rate) – совокупный среднегодовой темп роста
- DDGS (англ. distillers dried grains with solubles) – сухая кормовая барда
- INU – инулиназная активность

Аппаратурно технологическая схема культивации микроорганизмов-продуцентов кормового белка



ЭКСПЛИКАЦИЯ ОБОРУДОВАНИЯ						
N строки	N позиция	Наименование	Кол.	Характеристика	Тип, марка	Примечание
1	1.1,2	Аппарат ПДО	1	V=98 м³, H=9,9 м, D=3,2 м	Существующий	
2	2	Насос для смеси	1	Q=50 м³/ч, H=60 м, N=2,5 кВт	ООО "НПО ЮРС" / Д. Делогоуэрий	
3	3	Теплообменник спиральный	1	S=50 м²	Настоящее оборудование	Китай
4	4	Сборник приготовления питательной среды	1	V=10 м³, H=3,5 м, D=2,8 м	Существующий	дрожжевая
5	5	Насос питательной среды	3	Q=25 м³/ч, H=32 м, N=1,1 кВт	ООО "НПО ЮРС" / Д. Делогоуэрий	
6	6.1,2	Малый А-К	2	V=0,63 м³, H=1,45 м, D=0,9 м	Настоящее оборудование	
7	7.1,2	Большой А-К	2	V=6,8 м³, H=2,7 м, D=1,8 м	Настоящее оборудование	
8	8	Насос большого А-К	1	Q=12,6 м³/ч, H=32 м, N=5,5 кВт	ООО "НПО ЮРС" / Д. Делогоуэрий	
9	9	Дрожже-квас	1	V=10 м³, H=9 м, D=2,8 м	Настоящее оборудование	
10	10	Насос дрожже-кваса	1	Q=50 м³/ч, H=32 м, N=10 кВт	ООО "НПО ЮРС" / Д. Делогоуэрий	
11	11.1,2	Дрожже-квасный аппарат	2	V=10 м³, H=13,2 м, D=2,2 м	Настоящее оборудование	
12	12	Насос ЮК	1	Q=50 м³/ч, H=32 м, N=5,5 кВт	ООО "НПО ЮРС" / Д. Делогоуэрий	
13	13.1,2	Двухконтур	2	D=0,8 м, H=31,7 м, N=1,8 м	Настоящее оборудование	
14	14.1,2	Насос вакуумный	2	Q=3,0 м³/ч, N=10 кВт	РМК-2 или ВМН-3	
15	15.1,2	Насос подачи ЮК на термоман	2	Q=40 м³/ч, H=50 м, N=18,5 кВт	ООО "НПО ЮРС" / Д. Делогоуэрий	
16	16	Кожухотрубный теплообменник	1	Q=50 м³/ч, R=6 м		
17	17	Термоманометр	1	D=4,5 м, V=107 м³, H=6 м, N=11 кВт	С. Волынский	Существующий, класс точ. П.02
18	18	Насос подачи ЮК на двуконтур	1	Q=50 м³/ч, H=32 м, N=18,5 кВт	ООО "НПО ЮРС" / Д. Делогоуэрий	
19	19	Сборник ортофосфорной кислоты	1	V=1 м³	"Еврохим"	
20	20	Насос-дозатор ортофосфорной кислоты	1	Q=0,5-2 л/ч, N=0,5 кВт		

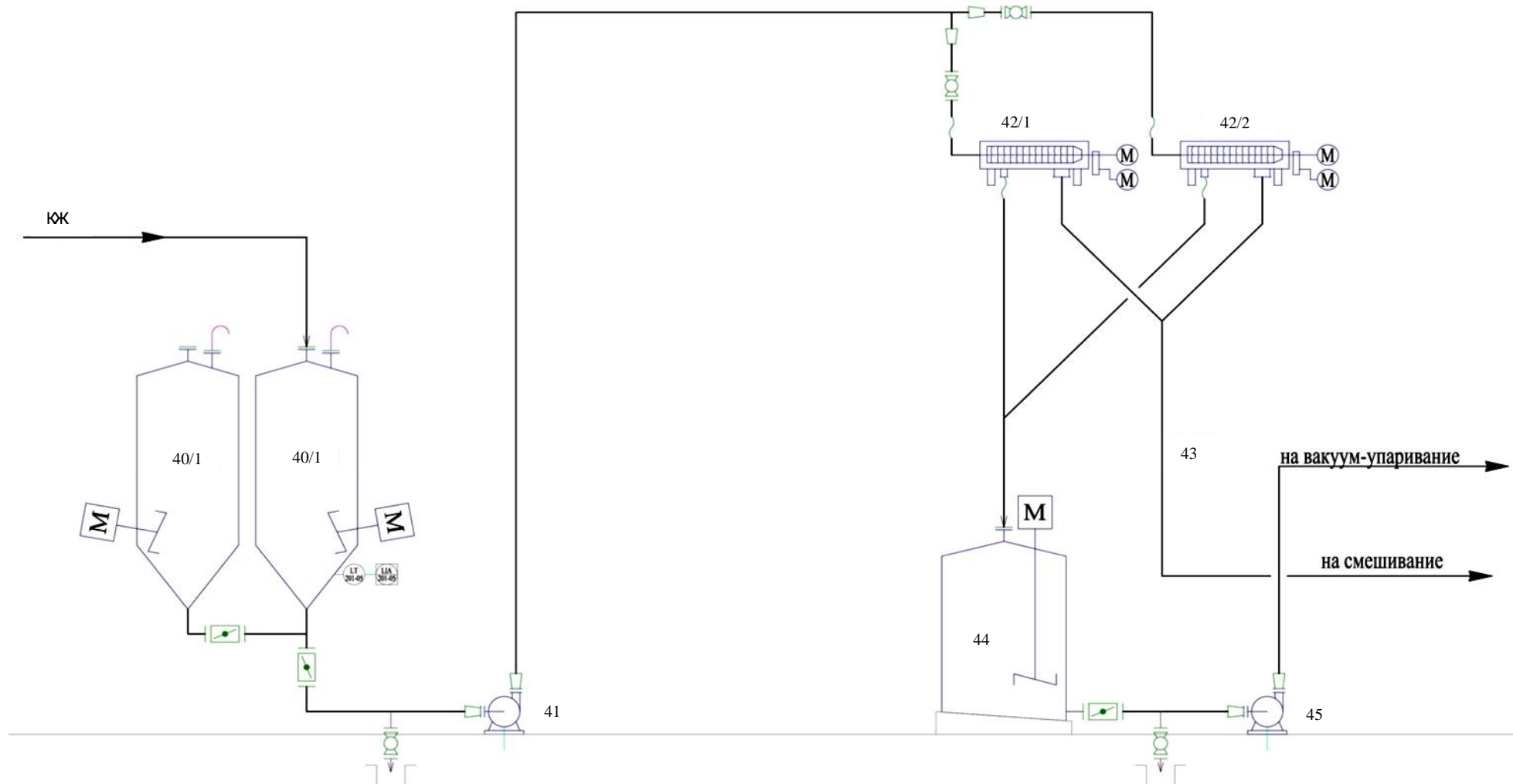
ЭКСПЛИКАЦИЯ ОБОРУДОВАНИЯ						
N строки	N позиция	Наименование	Кол.	Характеристика	Тип, марка	Примечание
21	21	Сборник р-ра каустика (мыльной воды)	1	V=1 м³	"Еврохим"	
22	22	Насос-дозатор р-ра каустика (мыльной воды)	1	Q=20 л/ч, N=2,2 кВт		
23	23	Насос-дозатор серной кислоты	1	Q=20 л/ч, H=30 м		
24	24	Витовой конвейер	1	3-5 м/с, N=2,2 кВт	KB 250	
25	25	Сборник приготовления раствора соли	1	D=2,0 м, V=6 м³, H=2,7 м, N=1,5 кВт	Настоящее оборудование	С. Волынский
26	26	Насос для р-ра питательных солей	1	Q=2,5 м³/ч, H=32 м, N=5,5 кВт	ООО "НПО ЮРС" / Д. Делогоуэрий	
27	27	Сборник приготовления раствора соли	1	V=10 м³, H=3,5 м, D=2,8 м	Существующий	дрожжевая
28	28	Насос р-ра питательных солей	1	Q=26 м³/ч, H=35 м, N=11 кВт		
29	29	Насос кислоты	1	Q=26 м³/ч, H=35 м, N=11 кВт		
30	30	Емкость хранения серной кислоты	1	V=11,5 м³, D=2980 мм, H=3850 мм		
31	31,2	Сборник серной кислоты	1	V=0,25 м³	Настоящее оборудование	
32	32	Конвейер для серной кислоты	1	R=8 м, V=100 л, N=2,2 кВт		
33	33	Напорный бак серной кислоты	1	V=0,25 м³	Настоящее оборудование	
34	34	Емкость пеногасителя	1	V=6,0 м³, D=3,0 м, N=2,2 кВт	Настоящее оборудование	Со змеевиком
35	35	Насос пеногасителя	1	Q=5 м³/ч, H=30 м, N=2,2 кВт		
36	36.1,3	Турбокомпрессор	3	Q=1500 м³/ч, P=100 кВт, N=150 кВт		ООО "ЭТО ОСМ"
37	37	Теплообменник спиральный	1	S=9 м²	Настоящее оборудование	Китай
38	38	Сиринджер для воздуха	1		Настоящее оборудование	
39	39	Воздуходувка (в шумозащитном кожухе)	1	Q=450 м³/ч, H=5 м, N=7,5 кВт	ВР 3-1 ССМ	ООО "ЭТО ОСМ"

Экспликация трубопроводов				
N линия	Наименование	Dy	Среда	Материал
1	T 1	80	Среда	Нерж. сталь
2	T 2	70	Среда	Нерж. сталь
3	T 3	70	Среда	Нерж. сталь
4	T 4	70	Среда	Нерж. сталь
5	T 5	70	Среда	Нерж. сталь
6	T 6	80	Питат. среда	Нерж. сталь
7	T 7	80	Питат. среда	Нерж. сталь
8	T 8	80	Питат. среда	Нерж. сталь
9	T 9	70	Питат. среда	Нерж. сталь
10	T 10	70	Питат. среда	Нерж. сталь
11	T 11	70	Питат. среда	Нерж. сталь
12	T 12	150	Дрож. суспензия	Нерж. сталь
13	T 13	150	Дрож. суспензия	Нерж. сталь
14	T 14	120	Дрож. суспензия	Нерж. сталь
15	T 15	70	Дрож. суспензия	Нерж. сталь
16	T 16	150	Дрож. суспензия	Нерж. сталь
17	T 17	80	Дрож. суспензия	Нерж. сталь
18	T 18	70	Дрож. суспензия	Нерж. сталь
19	T 19	70	Дрож. суспензия	Нерж. сталь
20	T 20	70	Дрож. суспензия	Нерж. сталь
21	T 21	80	Дрож. суспензия	Нерж. сталь
22	T 22	70	Дрож. суспензия	Нерж. сталь
23	T 23	120	Дрож. суспензия	Нерж. сталь
24	T 24	70	Дрож. суспензия	Нерж. сталь
25	T 25	60	Дрож. суспензия	Нерж. сталь

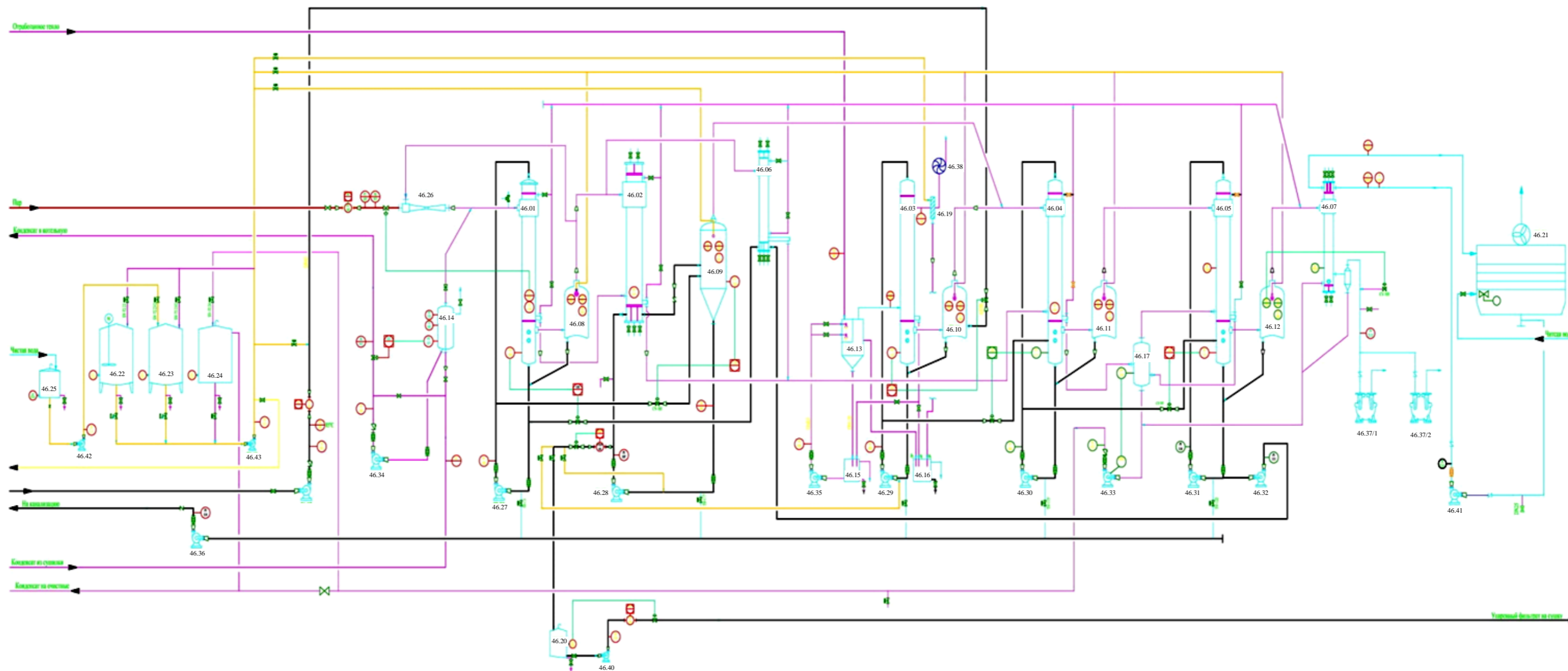
Экспликация трубопроводов				
N линия	Наименование	Dy	Среда	Применения
26	T 26	60	Дрож. суспензия	Нерж. сталь
27	T 27	50	Дрож. суспензия	Нерж. сталь
28	T 28	400	Отработ. воздух	Нерж. сталь
29	T 29	400	Отработ. воздух	Нерж. сталь
30	T 30	400	Воздух сжатый	Улерод. сталь
31	T 31	400	Воздух сжатый	Улерод. сталь
32	T 32	200	Воздух сжатый	Улерод. сталь
33	T 33	50	Воздух сжатый	Улерод. сталь
34	T 34	15	Ортофосф. к-та	Полимер. мат.
35	T 35	15	Аммиачная вода	Полимер. мат.
36	T 36	50	Вода	Улерод. сталь
37	T 37	50	Р-р карбамида	Нерж. сталь
38	T 38	40	Р-р карбамида	Нерж. сталь
39	T 39	32	Р-р карбамида	Нерж. сталь
40	T 40	32	Р-р карбамида	Нерж. сталь
41	T 41	25	Серная кислота	Нерж. сталь
42	T 42	25	Серная кислота	Нерж. сталь
43	T 43	50	Воздух сжатый	Нерж. сталь
44	T 44	25	Серная кислота	Нерж. сталь
45	T 45	25	Серная кислота	Нерж. сталь
46	T 46	25	Пеногаситель	Нерж. сталь
47	T 47	25	Пеногаситель	Нерж. сталь
48	T 48	70	Питат. среда	Нерж. сталь
49	T 49	50	Дрож. сусп./пит. среда	Нерж. сталь

- дрожжи
- основной поток
- осядающее сусло
- пар
- раствор карбамида
- пеногаситель
- серная кислота
- воздух
- раствор каустика
- ортофосф. кислота

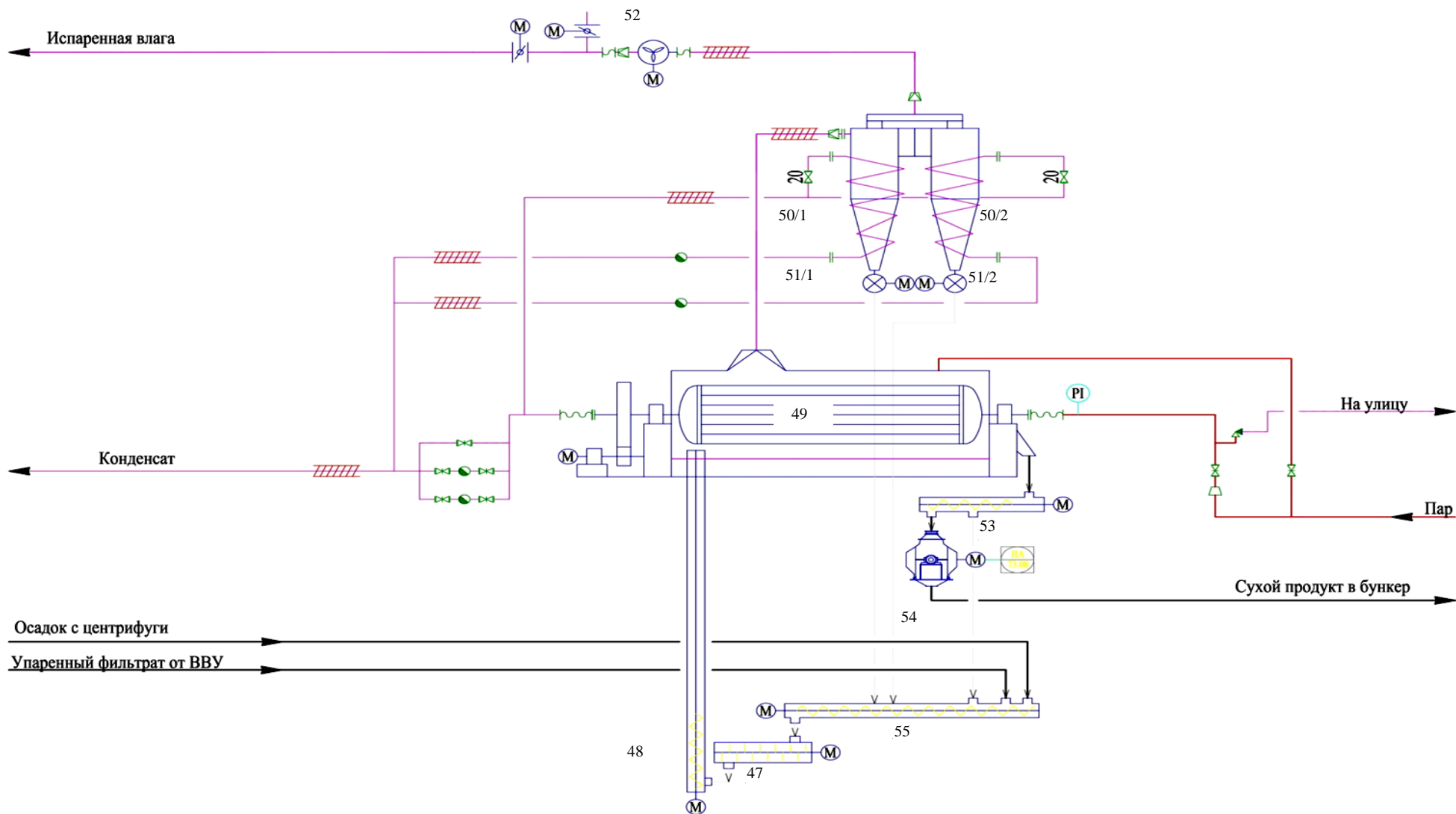
Аппаратурно-технологическая схема разделения культуральной жидкости



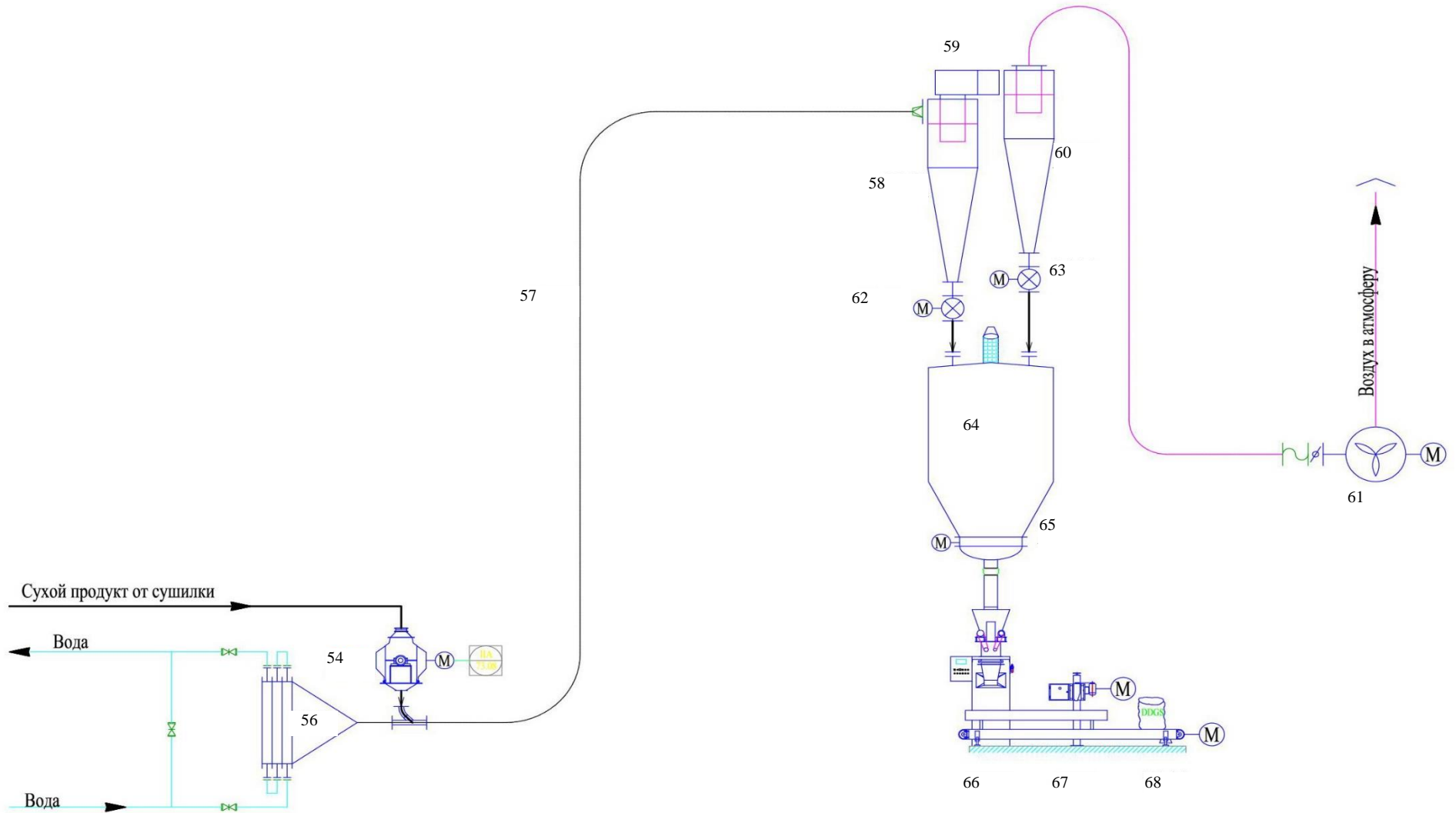
Аппаратурно-технологическая схема вакуум-упаривания фильтрата культуральной жидкости



Аппаратурно-технологическая схема сушки протеинового кормопродукта



Аппаратурно-технологическая схема хранения и упаковки сухого протеинового кормопродукта



**Акт о проведении производственных испытаний технологии получения
протеиновых кормопродуктов на основе вторичных сырьевых ресурсов
зерноперерабатывающих производств**

АКТ

**о проведении производственных испытаний технологии получения
протеиновых кормопродуктов на основе вторичных сырьевых ресурсов
зерноперерабатывающих производств**

Настоящий акт составлен по результатам производственных испытаний технологии получения протеиновых кормопродуктов на основе вторичных сырьевых ресурсов зерноперерабатывающих производств. Испытания проведены на предприятии ООО «Этилацетат» (Воронежская область) в условиях производства химической продукции (этилацетата) в период с 16 по 25 декабря 2021 г. Испытания проводились в цеху культивирования кормовых дрожжей, по технологии разработанной специалистами ВНИИПБТ, в основе которой последовательное аэробное культивирование микроорганизмов-продуцентов кормового белка, от чистой культуры до товарных протеиновых кормопродуктов. Продуцентом белка являлся штамм *Rhodospiridium diobovatum* Rh. d-1 из коллекции музея микроорганизмов ВНИИПБТ.

В качестве питательной среды использовали вторичную культуральную жидкость (ВКЖ) – побочный продукт производства этилацетата, с содержанием растворимых сухих веществ (СВ) 4,5-5,0% и общих СВ 9,5-10,0%. Начальная массовая доля белка по Барнштейну в ВКЖ составляла 26,1% на абсолютно сухое вещество (а.с.в.), массовая доля сырого протеина - 26,7% на а.с.в., содержание редуцирующих сахаров 0,5-0,8 г/100 см³.

В качестве минерального питания применяли 20%-ый раствор карбамида в количестве 2,0-2,5% к объему ВКЖ. Для углеводного питания использовали зерновое сусло с содержанием растворимых СВ 19-20% в количестве, которое обеспечивало внесение в питательную среду 0,5-1,0% углеводов к объему ВКЖ.

В производственных условиях ООО «Этилацетат» были отработаны и апробированы следующие этапы.

1. Технология культивирования дрожжей в аппаратах чистой культуры

На первоначальном этапе разведение чистой культуры дрожжей осуществляли в производственной лаборатории. С этой целью ее из пробирки пересевали в колбы Эрленмейера со 150 мл стерильной питательной средой (пивное сусло). В качестве минерального питания применяли карбамид в количестве 0,5% к объему сусла. Культивирование проводили на качалке при 34-36 °С в течение 24 часов. Концентрация дрожжевых клеток в культуральной жидкости (КЖ) составила 250-350 млн/см³.

Чистую культуру дрожжей, в количестве 4,5 литра, полученную на лабораторной стадии, вносили в маточник, оснащенный системой аэрации и содержащий 50 литров стерильной ВКЖ. В качестве углеводно-минерального питания использовали 20%-ое зерновое сусло и карбамид в количестве 2,5% и 0,5 % к объему ВКЖ соответственно. Полученную засевную культуру из маточника последовательно пересевали в малый аппарат чистой культуры (МАЧК) со стерильной ВКЖ объемом 250 литров. Температура культивирования в маточнике и МАЧК составляла 35-36 °С, рН 4,5-5,5, продолжительность - 20 часов при непрерывной аэрации. Концентрация дрожжевых клеток в аппаратах чистой культуры, на данном этапе, составила 300-500 млн./см³.

Засевные дрожжи в объеме 250 литров, полученные в МАЧК, вносили в большой аппарат чистой культуры (БАЧК), оснащенный системой аэрации и мешалкой, содержащий 2 000 литров стерильной ВКЖ с аналогичным углеводно-минеральным питанием. Температура культивирования в БАЧК составляла 36-37 °С, рН 4,5-5,5, продолжительность - 20 часов при непрерывной аэрации. Концентрация дрожжевых клеток в БАЧК составила 400-600 млн./см³.

2. Технология приготовления питательной среды

В сборник приготовления питательной среды (СППС), периодически или непрерывно осуществляли приток охлажденной ВКЖ. Одновременно в

СППС насосами-дозаторами подавали минеральное питание (заранее подготовленное в сборнике приготовления раствора солей) и углеводное питание в виде зернового суслу. При необходимости регулировали уровень рН добавлением концентрированных растворов серной кислоты или гидроксида натрия.

3. Технология культивирования дрожжей в дрожжегенераторе:

Засевные дрожжи из БАЧК в количестве 2 000 л перекачивали в дрожжегенератор (ДГ) объемом 100 м³, содержащий 12 м³ питательной среды. В течение 24 часов, по мере накопления дрожжевой биомассы и усвоения углеводов, осуществляли долив питательной среды в ДГ до уровня 50%. За это время, при непрерывной аэрации, концентрация дрожжевых клеток в КЖ составила 500-700 млн./см³, а содержание растворимых СВ снизилось до 2,0%. Температура культивирования - 37-38 °С. Уровень рН в ДГ поддерживали в автоматическом режиме в диапазоне 5,0-6,0. Полученные засевные дрожжи перекачивали в дрожжерастильный аппарат (ДА-1), объемом 400 м³.

В дальнейшем культивирование дрожжей в ДГ осуществляли по периодической схеме. Продолжительность культивирования 9-11 часов. Объем маточных дрожжей – 10-12 м³, общий объем КЖ после залива питательной среды 40-45 м³. Готовые засевные дрожжи из ДГ перекачивали в «головной» дрожжерастильный аппарат-2 (ДА-2).

4. Технология культивирования дрожжей в дрожжерастильных аппаратах:

Параллельно процессу культивирования дрожжей в ДГ, проводили наполнение питательной средой дрожжерастильного аппарата-1 (ДА-1). По достижении в нем уровня 25% начинали осуществлять аэрацию и приток засевных дрожжей из ДГ в количестве 30-35 м³. При накоплении в ДА-1 концентрации дрожжевых клеток на уровне 500 млн./см³ и снижении растворимых сухих веществ до уровня 2,3% открывали переточную линию на ДА-2. После выравнивания объемов в обоих аппаратах начинали подачу питательной среды параллельно в каждый аппарат до уровня 43%. При

достижении уровня КЖ в ДА-1 и ДА-2 43%, а также накоплении в них клеток в количестве 400-600 млн./см³ и снижении концентрации растворимых СВ до 2,4-2,5%, дрожжерастильные аппараты перевели в непрерывный режим работы. После этого в аппараты осуществляли полный приток питательной среды, полученной на основе ВКЖ, который в период испытаний составлял 18-22 м³/час. При этом 75% объема питательной среды подавали в ДА-2, откуда, по перегочной линии, КЖ поступала в ДА-1 и далее в дезмульгатор, из которого осуществляли подачу КЖ через термолизатор в цех сушки. Остальные 25% питательной среды направляли в ДА-1 с целью подпитки дрожжей углеводным питанием.

При снижении рН КЖ в «головном» аппарате (ДА-2) ниже уровня 5 осуществляли подачу в СППС концентрированного щелочного раствора гидроксида натрия в количестве 60-80 л/ч. При повышении уровня рН в ДА-2 выше 5,0 его подачу сокращали до 20 л/ч, а при рН 5,5 - прекращали. Уровень рН в ДА-1 находился в диапазоне от 5 до 6 и его корректирование не проводили.

Заключение

В ходе производственных испытаний были получены следующие результаты:

Параметры (среднесуточные)	Среда		Δ, %
	ВКЖ	Зрелая КЖ	
Растворимые СВ, %	4,5-5,0	2,4-2,5	45,5-53,3
Массовая доля белка по Барнштейну, % на а.с.в.	26,1-26,7	34,2-36,9	31,0-38,2
Массовая доля сырого протеина, % на а.с.в.	26,7-28,0	45,3-47,8	69,7-70,7
Концентрация дрожжевых клеток, млн/см ³	-	400-600	-

В результате испытаний в производственных условиях апробированы аппаратная схема и технология получения протеиновых кормопродуктов на

основе вторичных сырьевых ресурсов зерноперерабатывающих производств. В условиях непрерывной производственной эксплуатации отработаны режимы регулирования основных технологических параметров: рН, температура, биомасса.

Определены технологические аспекты получения протеиновых кормопродуктов на всех стадиях производства: разведение чистой культуры дрожжей, приготовление питательной среды, культивирование микроорганизмов-продуцентов кормового белка в аппаратах большого объема.

Подтверждена возможность промышленного получения протеиновых кормопродуктов с применением разработанной технологии.

Наработана опытная партия сухих протеиновых кормопродуктов в количестве 200 тонн.

От ООО «Этилацетат»:



Титков А.Н.

Кулешов А.А.

От ВНИИПБТ:

Зав. отделом
технологии спирта Туршатов М.В.

Зав. лабораторией
технологии спирта Кононенко В.В.

Младший науч.
сотрудник Соловьев А.О.

Технические условия ТУ 10.91.10-001-77884989-2018

Дрожжи кормовые «Аннинские»

ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ
"ФАРМАКОМ"

ОКПД2 10.91.10.151

ОКС 65.120

"СОГЛАСОВАНО"

Директор

ВНИИПБТ- филиала ФГБУН

"ФИЦ питания и биотехнологии",

академик РАН


 В.А. Поляков

" 16 " 2018 г.



"УТВЕРЖДАЮ"

Управляющий ИП

ООО "Фармаком"



Д.А. Гревцев

" 16 " 2018 г.

ДРОЖЖИ КОРМОВЫЕ

"АННИНСКИЕ"

Технические условия

ТУ 10.91.10-001-77884989-2018

Вводятся впервые

Дата введения в действие 01.10.2018

Приложение И

**Постоянный технологический регламент производства дрожжей
кормовых «Аннинские» из крахмалсодержащего сырья ПТР 10-194-18**

ОБЩЕСТВО С ОГРАНИЧЕННОЙ ОТВЕТСТВЕННОСТЬЮ
"ФАРМАКОМ"

"УТВЕРЖДАЮ"
Управляющий ИП
ООО "Фармаком"



Д.А. Гревцев
2018 г.

ПОСТОЯННЫЙ ТЕХНОЛОГИЧЕСКИЙ РЕГЛАМЕНТ
ПРОИЗВОДСТВА ДРОЖЖЕЙ КОРМОВЫХ "АННИНСКИЕ"
ИЗ КРАХМАЛОСОДЕРЖАЩЕГО СЫРЬЯ

ПТР 10-194-18

"СОГЛАСОВАНО"
Директор
ВНИИПБТ- филиала ФГБУН
"ФИЦ питания и биотехнологии",
академик РАН

 В.А. Поляков
" 21 " 2018 г.

Срок действия регламента до " 21 " 08 2018 г.

Технологическая часть проекта по разработке и созданию аппаратурно-технологического комплекса для производства сухих кормовых дрожжей

РОССИЙСКАЯ АКАДЕМИЯ НАУК
ВСЕРОССИЙСКИЙ НАУЧНО-ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ИНСТИТУТ ПИЩЕВОЙ БИОТЕХНОЛОГИИ – ФИЛИАЛ
ФЕДЕРАЛЬНОГО ГОСУДАРСТВЕННОГО БЮДЖЕТНОГО УЧРЕЖДЕНИЯ
НАУКИ «ФЕДЕРАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ЦЕНТР ПИТАНИЯ,
БИОТЕХНОЛОГИИ И БЕЗОПАСНОСТИ ПИЩИ»

ПРОЕКТНЫЕ МАТЕРИАЛЫ
ПО ТЕХНОЛОГИЧЕСКОЙ ЧАСТИ ПРОЕКТА:
«РАЗРАБОТКА И СОЗДАНИЕ АППАРАТУРНО-ТЕХНОЛОГИЧЕСКОГО
КОМПЛЕКСА ДЛЯ ПРОИЗВОДСТВА СУХИХ КОРМОВЫХ ДРОЖЖЕЙ В
УСЛОВИЯХ ООО «ФАРМАКОМ»

Пояснительная записка
Чертежи
Спецификация
Задания

Директор ВНИИПБТ

Руководитель проекта



Поляков В.А.

Кононенко В.В.

Москва 2018 г.

Инв. № Подл.	Подпись и дата	Взам. инв. №	Инв. № дубл.	Подпись и дата

Состав проекта		Стр.						
1	Пояснительная записка							
1.1	Общая часть	3						
1.2	Основные технологические решения	5						
1.3	Структура производства	5						
1.4	Продуктовый расчет	6						
1.5	Нормы расхода сырья, материалов, ресурсов: вода, воздух, пар электроэнергия	8						
1.6	Описание аппаратурно-технологической схемы	10						
1.7	Инженерное обеспечение	15						
1.7.1	Водоснабжение	15						
1.7.2	Стоки	15						
1.7.3	Электроснабжение	15						
1.7.4	Пароснабжение	16						
2	Спецификация оборудования	17						
3	Чертежи							
3.1	Аппаратурно-технологическая схема	22						
3.2	Экспликация основного технологического оборудования	23						
3.3	План отм. +0.000	24						
3.4	План отм. +2.500	25						
3.5	План отм. +5.000	26						
3.6	План отм. +7.500	27						
3.7	План отм. +9.500	28						
3.8	Разрезы 1-1 и 2-2	29						
4	Задания по смежным частям проекта							
4.1	Задание на АСУТП	30						
4.2	Сводная ведомость емкостного оборудования	34						
4.3	Задания на разработку нестандартного емкостного оборудования	37						
4.4	Задание на запорно-регулирующую арматуру	46						
4.5	Задание на фундаменты	51						
4.6	Задание на водопотребление и канализацию	53						
4.7	Задание на потребление пара	56						
4.8	Задание на энергопотребление	58						
4.9	Задание на подбор насосного оборудования	61						
4.10	Штатное расписание	63						
224/18-25								
Изм.	Лист	№ докум.	Подп.	Дата	Отделение культивирования Пояснительная записка Спецификация Чертежи Задания	Стадия	Лист	Л-в
Разраб.		Кононенко					2	85
Разраб.		Туршатов						
Разраб.		Соловьев						
Пров.								
Утв.								
Инв. № Подл.		Подпись и дата		Взам. инв. №	Инв. № дубл.	Подпись и дата		

Дипломы, сертификаты, награды

