



СОЮЗ СОВЕТСКИХ
СОЦИАЛИСТИЧЕСКИХ
РЕСПУБЛИК

(19) **SU** (11) **803472**

A

6(50) С 12 N 1/16;
(С 12 N 1/16; С 12 R 1/00)

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ СССР
ПО ДЕЛАМ ИЗОБРЕТЕНИЙ И ОТКРЫТИЙ

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

000209

К АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ

(21) 2828388/28-13

(22) 16.10.79

(72) Ю.М. Кравец, В.А. Витковская,
Т.И. Шматко, Ю.А. Каранов,
М.Д. Лагутенко, М.И. Кошель
и Ф.А. Аникин

(71) Украинский научно-исследовательский институт спиртовой и ликеро-водочной промышленности

(53) 663.14 (088.8)

(56) 1. Жарова Т.В., Зырянова А.Г. и Новоселова Н.И. Очистка последрождевой бражки плесневыми грибами, "Тидролизная и лесохимическая промышленность", № 5, 1977, стр. 4.

2. Авторское свидетельство СССР по заявке № 2075801/28,

кл. С 12 D 13/06, 1976 (прототип).

(54)(57) 1. СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ БИОМАССЫ путем выращивания смеси микроорганизмов на питательной среде, содержащей органические и минеральные

компоненты и ростовые вещества, с добавлением дополнительных источников азота и фосфора в виде минеральных солей при аэрации среды с возвратом части биомассы на стадию выращивания, отличающийся тем, что, с целью удешевления способа, а также снижения загрязненности сточных вод, в качестве питательной среды используют последрождевую (вторичную) барду, а в качестве смеси микроорганизмов - виды *Trichosporon margaritifera*, *Trichosporon sericeum*, *Trichosporon cutaneum*, *Torulopsis candida*, *Candida curvata*, *Cryptococcus terreus*, *Cryptococcus luteolus*, *Penicillium citrinum*, *Penicillium glaucum*

в соотношении 13:10:17:15:12:6:12:7:8.

2. Способ по п. 1, отличающийся тем, что на стадию выращивания возвращают 30-50% биомассы, выделяемой из культуральной жидкости.

(19) **SU** (11) **803472** **A**

Изобретение относится к микробиологической промышленности, а именно, к способу получения биомассы, на предприятиях спиртовой промышленности, перерабатывающих свеклосахарную мелассу на спирт и кормовые дрожжи.

Известен способ получения микробной биомассы, образующейся при очистке промышленных сточных вод, например, гидролизно-дрожжевого производства, активным илом [1].

Недостатком способа является недостаточно высокий выход биомассы микроорганизмов.

Ближайшим техническим решением по технической сущности и достигаемому эффекту является способ получения биомассы путем выращивания смеси микроорганизмов на питательной среде, содержащей органические и минеральные компоненты и ростовые вещества, с добавлением дополнительных источников азота и фосфора в виде минеральных солей при аэрации среды [2].

Согласно предложенному способу смесь штаммов *Pseudomonas fragi* АК-40, *Pseudomonas fluorescens* КС-30, *Pseudomonas liquefaciens* СР-19 и *Chromobacterium aurantiacum* КР-17

выращивают на отходах производства хлебопекарных дрожжей - бражке после 1 и 2 ступеней сепарации дрожжей и фильтрате с вакуум-фильтров с добавлением минеральных солей в качестве фосфорного питания. При этом часть выделенной биомассы направляли в стабилизатор для аэрации в течение 3-5 ч, а затем в ферментер в качестве посевного материала.

К недостаткам способа относятся большие затраты на производство микробной биомассы.

Целью предложенного способа является удешевление способа, а также снижение загрязненности сточных вод.

Поставленная цель достигается тем, что, при выращивании смеси микроорганизмов на питательной среде, содержащей органические и минеральные компоненты и ростовые вещества, с добавлением дополнительных источников азота и фосфора в виде минеральных солей при аэрации среды с возвратом части биомассы на стадию выращивания, предусматривается использование в качестве питательной среды последрожжевой (вторичной) барды, а в качестве смеси микроорганизмов - видов

Trichosporon margaritifera, *Trichosporon sericeum*, *Trichosporon cutaneum*, *Torulopsis candida*, *Candida curvata*, *Cryptococcus terreus*, *Cryptococcus luteolus*, *Penicillium citrinum*, *Penicillium glaucum*, в соотношении 13:10:17:15:12:6:12:7:8. При этом на стадию выращивания возвращают 30-50% биомассы, выделяемой из культуральной жидкости.

Сущность предлагаемого способа заключается в том, что смесь микроорганизмов выращивают на последрожжевой (вторичной) барде, которая -

- содержит 3,0-5,2% сухих веществ, в том числе 1,5-3,0% органических и 1,5 - 2,2% минеральных,

- характеризуется высоким осмотическим давлением,

- биохимическая потребность в кислороде (БКп) составляет 14000 - 30000 мг/л,

- содержит трудноусвояемые микроорганизмами органические вещества,

- активная реакция среды в среднем соответствует pH 4,2 - 4,5.

Содержание органических и минеральных веществ последрожжевой барды, зависящее от ее качества сырья, поступающего на производство, приведено в табл. 1.

Таблица 1

Содержание органических и минеральных веществ в последрожжевой барде

Показатели	Содержание, % на СВ
1	2
Органические вещества	46-67
Углеводы	1,95-6,20
Глицерин	0,65-5,80
Молочная кислота	0 - 2,00
Летучие кислоты	0 - 0,50

1	2
Глутаминовая кислота в гидролизованной барде	0,41-9,82
Бетаин	8,12-20,86
Азот: аминный	0,20-0,39
аммонийный	0,06-0,78
белковый	0,58-1,31
Жироподобные вещества	0,09-4,00
Зольность (сернокислая)	36,23-53,45

Посевную культуру микроорганизмов получают обычным путем, принятым в микробиологической промышленности, последовательно размножают из пробирок по стадиям: в колбах на качалках, в инокуляторах, посевных аппаратах, ферментах. Плотность засева питательной среды посевной культурой, содержащей 4 г/л абсолютно сухой биомассы, составляет 20% от объема среды.

В зависимости от исходного состава питательной среды параметры выращивания микроорганизмов следующие: удельный расход воздуха на аэрацию 260-840 м³/м³ среды, температура в ферменте 20-35°C, продолжительность процесса 6-18 ч, что соответствует скорости разбавления среды 0,056-0,166 ч⁻¹, концентрация абсолютно сухой биомассы в культуральной среде поддерживается в пределах 8-12 кг/м³.

Предлагаемая ассоциативная смесь микроорганизмов обладает свойством саморегулирования активной реакции среды от pH 4,2-4,5 до pH 7,6-8,4.

Непрерывно отбираемая из ферментера биомасса отделяется от культуральной среды одним из известных способов (отстаивание, сепарация, центрифугирование и др.). Часть биомассы возвращается в ферментер на стадию выращивания, а остальная часть - на сгущение, плазмолит и высушивание.

Количество возвращаемой в фермент биомассы зависит от концентрации ее в культуральной среде и составляет 30-50% биомассы, выделяемой из культуральной жидкости.

Выход биомассы составляет 6-12 кг/м³ (по абсолютно сухому веществу), с содержанием азота белка 8,5-9,3% (по абсолютно сухому веществу), фосфора - 0,3% при зольности 12 - 20%.

Способ поясняется следующими примерами.

Пример 1. Получаемую при комплексной переработке свеклосахарной мелассы на спирт и кормовые дрожжи последнюю (вторичную) барду, содержащую 3,5% сухих веществ, в том числе 2% органических, и характеризующихся ХПК 18000 мг/л и БПКп 14000 мг/л направляли в сборник, куда добавляли 0,389 кг/м³ карбамида и 0,402 кг/м³ ортофосфорной кислоты в качестве источника азота и фосфора.

Приготовленную таким образом питательную среду подавали в аппарат с пневматической аэрацией и засевали посевной культурой ассоциативной смеси микроорганизмов, преимущественно следующих видов *Trichosporon margaritiferum*, *Trichosporon sericeum*, *Trichosporon cutaneum*, *Torulopsis candida*, *Candida curvata*, *Cryptococcus terreus*, *Cryptococcus luteolus*, *Penicillium citrinum*, *Penicillium glaucum* взятых в соотношении 13:10:17:15:12:1:6:12:7:8.

Посевную культуру получали в количестве 20% к объему среды при содержании биомассы 4 г/л (по абсолютно сухой биомассе), последовательно выращивая ее из пробирок с агаром в колбах на качалках, в инокуляторах, посевных аппаратах, ферментерах. В качестве среды для приготовления посевной культуры использовали последнюю барду с добавлением минеральных солей в качестве источников азота и фосфора в количествах соответственно 0,9 и 0,45% к имеющимся в среде органическим веществам.

Выращивание указанной выше смеси микроорганизмов в аппаратах с пневматической аэрацией осуществляли при температуре 25°C и удельном расходе воздуха 450 м³/м³ до достижения концентрации биомассы в культуральной среде 8 кг/м³ (по абсолютно сухой биомассе).

Затем выращивание осуществляли непрерывно-проточным методом при скорости разбавления $0,125 \text{ ч}^{-1}$, что соответствует времени пребывания среды в аппарате 8 ч. В процессе культивирования происходило саморегулирование активной реакции среды от pH 4,2 до pH 7,6. Из аппарата культуральная жидкость с биомассой непрерывно поступала в отстойник, где отстаивалась 2 ч. Осаждающаяся биомасса из осадочной камеры отстойника отбиралась непрерывно. Часть биомассы (50%) возвращалась в ферментер, а другая часть поступала на сепарацию, плазмоллиз и высушивание. Отстоявшаяся жидкость из отстойника и отток после сепарации, характеризующиеся показателями: сухих веществ 2,2%, в том числе органических 0,7%, что соответствует ХПК 6200 мг/л и БПКп 3200 мг/л, сбрасывались в канализацию.

В процессе выращивания органические вещества последрожжевой барды использовались на 65% $(100 - \frac{0,7 \cdot 100}{2,0})$

Выход биомассы составил $6,0 \text{ кг/м}^3$ (по абсолютно сухой биомассе).

Пример 2. Последрожжевую (вторичную) барду, содержащую 5,2% сухих веществ, в том числе 3% органических, и характеризующихся ХПК 34200 мг/л и БПКп 30000 мг/л, направляли в сборник барды, куда добавляли $0,583 \text{ кг/м}^3$ карбамида и $0,603 \text{ кг/м}^3$ ортофосфорной кислоты в качестве источников азотистого и фосфорного питания.

Приготовленную таким образом питательную среду направляли в аппараты с пневматической аэрацией и засеивали посевной культурой ассоциативной смеси микроорганизмов с преимущественным составом, приведенным в примере 1.

Посевную культуру получали так, как описано в примере 1.

Выращивание смеси микроорганизмов в аппарате с пневматической аэрацией осуществляли при температуре 32°C и

удельном расходе воздуха $720 \text{ м}^3/\text{м}^3$ до достижения концентрации биомассы в среде 12 кг/м^3 (по абсолютно сухой биомассе). Затем процесс выращивания осуществляли непрерывно-проточным методом при скорости разбавления $0,067 \text{ ч}^{-1}$, что соответствует продолжительности выращивания 15 ч. Концентрацию биомассы в среде поддерживали 12 кг/м^3 (по абсолютно сухой биомассе). В процессе культивирования происходило саморегулирование активной реакции среды от pH 4,5 до pH 8,4.

Из аппарата культурная жидкость с биомассой непрерывно поступала в отстойник, где отстаивалась 2 ч. Осаждающаяся биомасса отбиралась из осадочной камеры отстойника непрерывно. Часть осадков в количестве 30% возвращалась в ферментер, а остальное количество биомассы поступало на сепарацию, плазмоллиз и высушивание.

Осветленная после отстаивания жидкость и отток после сепарации биомассы, содержащие 2,8% сухих веществ, из них 0,9% органических, что соответствует ХПК 7900 мг/л и БПКп 6000 мг/л, сбрасывались в канализацию.

В процессе выращивания органические вещества последрожжевой барды использовались на 70% $(100 - \frac{0,9 \cdot 100}{3,0})$.

Выход биомассы составил 12 кг/м^3 (по абсолютно сухой биомассе).

Получаемая по предлагаемому способу биомасса имеет весь комплекс незаменимых аминокислот и витаминов группы В. Содержание витаминов группы В составляет $B_1 - 2,2 \text{ г/г}$, $B_2 - \text{до } 30 \text{ мкг/г}$, $B_3 - \text{до } 24 \text{ г/г}$, $B_5 - \text{около } 150 \text{ г/г}$, $B_{12} - 40 \text{ мкг/г}$.

Предложенный способ получения биомассы одновременно может быть использован и для предочистки жидких отходов мелассно-спиртовых заводов, так как при этом загрязненность стоков уменьшается по БПКп с 14000–30000 мг/л до 2800–6000 мг/л, т.е. на 80%.

Составитель В. Зайцева

Редактор И. Кусова Техред Ж. Кастелович Корректор И. Эрдейи

Заказ 409/ДСП Тираж 444 Подписное

ВНИИПИ Государственного комитета СССР
по делам изобретений и открытий

113035, Москва, Ж-35, Раушская наб., д. 4/5

Филиал ИПИ "Патент", г. Ужгород, ул. Проектная, 4