



УКРАЇНА

(19) UA

(11) 36278

(13) A

(51) 6 C12N1/16

МІНІСТЕРСТВО ОСВІТИ
І НАУКИ УКРАЇНИДЕРЖАВНИЙ ДЕПАРТАМЕНТ
ІНТЕЛЕКТУАЛЬНОЇ
ВЛАСНОСТІ

ОПИС

ДО ДЕКЛАРАЦІЙНОГО ПАТЕНТУ
НА ВИНАХІДвидається під
відповідальність
власника
патенту

(54) СПОСІБ ОДЕРЖАННЯ БІОМАСИ КОРМОВИХ ДРІЖДЖІВ

(21) 99116439

(22) 26.11.1999

(24) 16.04.2001

(33) UA

(46) 16.04.2001, Бюл. № 3, 2001 р.

(72) Осовик Анатолій Миколайович, Янчевський Віктор Казимирович, Сосницький Віталій Володимирович, Воловодівський Володимир Пилипович, Завадовський Володимир Адамович

(73) Український науково-дослідний інститут спирту і біотехнології продовольчих продуктів.

(57) 1. Спосіб одержання біомаси кормових дріжджів, що передбачає вирощування дріжджеподібних грибів в аеробних умовах на живильному середовищі із зернової післяспиртової барди, що

містить джерела вуглецю, з наступним виділенням біомаси із культурального середовища, який **відрізняється** тим, що в вихідне живильне середовище додатково вводять джерело вуглецю у вигляді вуглеводів або етанолу, а як продуцент біомаси використовують змішану культуру дріжджеподібних грибів *Candida utilis* і *Candida tropicalis*, при вирощуванні її з рециркуляцією культуральної рідини у співвідношенні об'ємів вихідного живильного середовища і культуральної рідини 1 : 0,5 ÷ 4.

2. Спосіб за п. 1, який **відрізняється** тим, що як джерело вуглеводів застосовують оцукрене зернове сусло або мелясу, а як джерело етанолу - фракцію головну етилового спирту.

Винахід відноситься до харчової та мікробіологічної промисловості і може бути використаний у біотехнології виробництва кормових дріжджів, зокрема, на спиртових заводах, що переробляють зерно.

Відомий спосіб вирощування біомаси кормових дріжджів з наступним її виділенням в аеробних умовах на мелясній післяспиртовій барді, збагаченій цукром, як додатковим джерелом вуглецю, за рахунок додавання меляси (Временная технологическая инструкция комплексной переработки мелясы при уменьшенной выработке спирта с получением хлебопекарных и сухих кормовых дрожжей, двуокиси углерода. Госагропром СССР, Киев, 1988. - С.26, 48, 52, 57). Продуцентом біомаси є змішана культура дріжджеподібних грибів *C. utilis*, *C. tropicalis*, *Tr. cutaneum*, а рециркуляцію здійснюють у співвідношенні об'ємів живильного середовища і культуральної рідини 1: 1÷3.

Найбільш близьким до запропонованого є спосіб вирощування біомаси кормових дріжджів з наступним її виділенням в аеробних умовах на післяспиртовій зерновій барді, що містить джерела вуглецю, при засвоєнні яких синтезують 6-10 г абсолютно сухої біомаси (АСД) із 1 л барди, а як продуцент біомаси використовують дріжджеподібний гриб *Candida tropicalis* (Производственный технологический регламент на получение сухих кормовых дрожжей из зерновой и картофельной барды, ТР 10-04-03-8-87. - Москва, 1988). Але разом з тим, при зменшенні кількості барди у випадку об-

меження виробітку спирту зменшується і виробіток кормових дріжджів.

В основу винаходу поставлено задачу удосконалення способу одержання біомаси кормових дріжджів на живильному середовищі із післяспиртової зернової барди шляхом додаткового введення в вихідне живильне середовище джерел вуглецю та застосування змішаної культури дріжджеподібних грибів-продуцентів.

Технічний результат, що досягається внаслідок реалізації винаходу, полягає в підвищенні продуктивності процесу вироблення кормових дріжджів і економічності синтезу кормового білка за рахунок додаткового введення в вихідне живильне середовище джерел вуглецю та ефективного його використання змішаною культурою дріжджеподібних грибів-продуцентів.

Споживчі властивості, які зв'язані з технічним результатом, полягають в збільшенні виробництва кормових дріжджів на спиртовому заводі в умовах зменшення кількості післяспиртової барди при обмеженні виробітку спирту.

Досягається технічний результат тим, що у відомому способі одержання біомаси кормових дріжджів, що передбачає вирощування дріжджеподібних грибів в аеробних умовах на живильному середовищі із зернової післяспиртової барди, що містить джерела вуглецю, з наступним виділенням біомаси із культурального середовища, у вихідне живильне середовище додатково вводять джерело вуглецю у вигляді вуглеводів або етанолу, а як

(13) A

(11) 36278

(19) UA

продуцент біомаси використовують змішану культуру дріжджеподібних грибів *Candida utilis* і *Candida tropicalis* при вирощуванні її з рециркуляцією культуральної рідини у співвідношенні об'ємів вихідного живильного середовища і культуральної рідини 1 : 0,5-4.

Переважає, як джерело вуглеводів застосовують оцукрене зернове сусло або мелясу, а як джерело етанолу - фракцію головної етилового спирту.

Додаткове джерело вуглецю, внесені в вихідне живильне середовище вуглеводи (в оцукреному зерновому суслі), цукор (в мелясі) або етанол (у фракції головної етилового спирту) забезпечують при їх засвоєнні збільшення кількості вирощеної біомаси (кормового білку), яку ефективно синтезує в аеробних умовах змішана культура дріжджеподібних грибів *Candida utilis* і *Candida tropicalis* в умовах рециркуляції культуральної рідини. За рахунок культуральної рідини, яку рециркулюють в процес вирощування, досягається зменшення в культуральному середовищі концентрації біомаси при глибокому засвоєнні джерел вуглецю, що сприяє забезпеченню біомаси, що синтезується, розчинним киснем в процесі аерації середовища. При цьому змішана культура дріжджеподібних грибів сприяє високій ефективності синтезу біомаси.

Саме сукупність заявлених технологічних прийомів і застосування запропонованої змішаної культури дріжджеподібних грибів дозволяють досягнути технічного результату.

Запропонований спосіб одержання біомаси здійснюють таким чином.

Процес вирощування біомаси проводять безперервно-проточним способом в ферментаторі місткістю 10 л при наповненні середовищем 5-6 л, підтримуючи такі параметри процесу культивування дріжджів: швидкість розбавлення середовища $0,17-0,20 \text{ год}^{-1}$, температура $37-38^\circ\text{C}$, рН культурального середовища 3,5-4,0, витрата повітря на аерацію середовища 80 л/л-хв і швидкість обертання мішалки в ферментаторі 800 хв^{-1} .

Через кожні 2 години контролюють накопичення біомаси масовим методом після виділення її із культурального середовища центрифугуванням.

Для приготування живильного середовища використовують післяспиртову зернову барду, одержану в умовах спиртового заводу при переробці зерна пшениці. Барду центрифугують для виділення завислих частинок, а в одержаний фугат додають як джерело азоту карбамід в кількості $1,2 \text{ г/л}$.

Вказане середовище використовують для вирощування біомаси дріжджів в періодичному процесі перед початком безперервного процесу. Для цього в ферментатор набирають 5-6 л живильного середовища, задають посівні дріжджі, розмножені із чистої культури дріжджеподібних грибів *Candida utilis* і *Candida tropicalis*, в кількості 1-2 г АСД/л і ведуть вирощування біомаси в періодичному процесі протягом 6-8 год. В цей час підтримують в середовищі задане значення рН 4,5-5,0 додаванням розчину сірчаної кислоти, температуру $37-38^\circ\text{C}$, витрату повітря на аерацію 80 л/л-хв при швидкості обертання мішалки 800 хв^{-1} .

Для безперервного процесу приготують вихідне живильне середовище внесенням в фугат зернової барди джерела вуглецю (оцукреного зер-

нового сусла або меляси, або фракції головної етилового спирту) в кількості $6,0-50,0 \text{ г/л}$ та карбаміду, як джерела азоту, в кількості $1,8-6,0 \text{ г/л}$. При цьому джерело фосфору додатково не вносять, оскільки фосфор міститься в фугаті зернової барди в достатній кількості для синтезу біомаси і при додатковому внесенні джерела вуглецю у вказаній кількості.

Після вирощування в ферментаторі біомаси дріжджів знижують рН культурального середовища до 3,5-4,0 і розпочинають рівномірний і безперервний відбір її з культуральним середовищем і безперервну подачу в ферментатор живильного середовища, приготовленого для безперервно-проточного процесу, підтримуючи вказані параметри процесу культивування. Із культурального середовища, яке відбирають із ферментатора, виділяють біомасу центрифугуванням. Одержану культуральну рідину рециркулюють в ферментатор, змішуючи її з живильним середовищем у співвідношенні об'ємів живильного середовища і культуральної рідини 1 : 0,5-4.

Приклад 1. Вирощування біомаси дріжджів проводять на вихідному живильному середовищі із зернової барди, в яке введено 3,2% меляси (1,54% цукру меляси).

Процес вирощування біомаси проводять безперервно-проточним способом при рециркуляції культуральної рідини у співвідношенні об'ємів вихідного середовища і культуральної рідини 1:1 і швидкості розбавлення $D = 0,20 \text{ год}^{-1}$ у ферментаторі місткістю 10 л при наповненні 5 л. Спочатку вирощують біомасу періодичним способом на живильному середовищі, яке приготують шляхом центрифугування барди і внесенням на 1 л одержаного фугату $1,2 \text{ г}$ карбаміду. Для цього засівають середовище в ферментаторі чистою культурою дріжджів *Candida utilis* і *Candida tropicalis* із розрахунку 2 г абсолютно сухих дріжджів (АСД) на 1 л і культивують їх в періодичному процесі протягом 6 год, підтримуючи температуру культурального середовища 37°C , рН 5,0 дозуванням розчину сірчаної кислоти, витрату повітря на аерацію 80 л/л-год при швидкості обертання мішалки 800 хв^{-1} . Після накопичення біомаси знижують рН культурального середовища до 3,5 і розпочинають безперервно-проточне культивування дріжджів. Для цього використовують вихідне живильне середовище, яке приготують внесенням в фугат зернової барди 3,2% меляси і $1,8 \text{ г/л}$ карбаміду. Першу годину таке живильне середовище рівномірно і безперервно дозують в ферментатор в кількості 1 л/год , відбираючи стільки ж культурального середовища.

Відібране культуральне середовище центрифугують для виділення біомаси, а одержану культуральну рідину змішують з вихідним живильним середовищем у співвідношенні їх об'ємів 1:1 і безперервно дозують в ферментатор в кількості 1 л , що відповідає швидкості розбавлення $D=0,20 \text{ год}^{-1}$. В період сталого процесу накопичення біомаси в культуральному середовищі складає $9,0 \text{ г/л}$. В розрахунок на вихідне живильне середовище з урахуванням розбавлення його культуральною рідиною 1:1 складає $18,0 \text{ г АСД/л}$ з вмістом (% в АСД) сироватного протеїну 48,4, білка 40,6, золи 8,1. Залишкова концентрація цукру меляси в культуральній рідині

становить 0,05 %, що свідчить про глибоке використання його для синтезу біомаси. В змішаній культурі дріжджів 19 і 81 % клітин *C. utilis* Л-35 і *C. tropicalis* К-2, відповідно.

Економічний коефіцієнт синтезу біомаси із цукру меляси дорівнює 50,65 %.

Приклад 2. Вирощування біомаси дріжджів проводять на живильному середовищі із зернової барди, яке містить 6,5% вуглеводів після додавання оцукреного сусла із зерна пшениці.

Процес вирощування біомаси проводять, як викладено в прикладі 1, при швидкості розбавлення $D = 0,17 \text{ год}^{-1}$. При цьому безперервно-проточний процес ведуть при рециркуляції культуральної рідини у співвідношенні об'ємів вихідного культурального середовища і культуральної рідини 1:4, наповненні ферментатора - 6 л, рівномірно дозуючи в нього 1 л вказаного живильного середовища за годину. Кількість біомаси чистої культури дріжджів для засіву живильного середовища в періодичному процесі її нарощування становить 1 г АСД/л, тривалість нарощування 8 год. Вихідне культуральне середовище для безперервно-проточного культивування приготують додаванням до фугату зернової барди 40 % концентрованого зернового сусла (концентрація вуглеводів 14,4 %), із розрахунку 65 г вуглеводів живильного середовища та карбаміду 6 г/л. Культуральну рідину, яку одержують після центрифугування культурального середовища, змішують з вихідним живильним середовищем у заданому співвідношенні об'ємів і рівномірно дозують у ферментатор. В період сталого процесу накопичення біомаси в культуральному середовищі становить 7,2 г АСД/л.

В розрахунку на вихідне живильне середовище з урахуванням розбавлення його 1:4 накопичення біомаси в 1 л дорівнює 36 г АСД з вмістом (% в АСД): сирого протеїну - 51,6, білка - 42,7, золи - 8,0. Залишкова концентрація вуглеводів в культуральній рідині становить 0,18 %, що свідчить про глибоке використання їх для синтезу біомаси. В змішаній культурі дріжджів *C. utilis* Л-35 і *C. tropicalis* К-2 складають 20 і 80 %, відповідно. Еко-

номічний коефіцієнт синтезу біомаси із вуглеводів сусла дорівнює 52 %.

Приклад 3. Вирощування біомаси дріжджів проводять на вихідному живильному середовищі із зернової барди, яке містить 5,4 г/л етанолу після додавання до фугату барди 6,0 г/л фракції головної етилового спирту.

Процес вирощування біомаси проводять, як викладено в прикладі 1, при швидкості розбавлення культурального середовища $D = 0,20 \text{ год}^{-1}$. При цьому одержану культуральну рідину змішують з вихідним живильним середовищем при співвідношенні їх об'ємів 0,5:1 і безперервно дозують в ферментатор в кількості 1 л при наповненні 5 л. В період сталого процесу культивування в культуральному середовищі накопичення біомаси становить 8,3 г АСД/л. В розрахунку на 1 л вихідного живильного середовища з урахуванням його розбавлення культуральною рідиною 1:0,5 накопичення біомаси складає 12,4 г АСД/л з вмістом (% в АСД): сирого протеїну - 57,9, білку - 48,7, золи - 9,1. В змішаній культурі дріжджів *C. utilis* Л-35 і *C. tropicalis* К-2 становлять 91 і 9 %, відповідно. В культуральній рідині знаходять наслідкову кількість етанолу, що свідчить про глибоке засвоєння його для синтезу біомаси. Економічний коефіцієнт синтезу біомаси із доданого в вихідне живильне середовище етанолу дорівнює 73 %.

Дані, що характеризують досягнення технічного результату запропонованим способом в порівнянні з прототипом, наведені в таблиці.

Як видно з таблиці, запропонований спосіб одержання біомаси кормових дріжджів на післяспиртовій зерновій барді забезпечує високу ефективність синтезу біомаси із додатково внесених джерел вуглецю. Економічний коефіцієнт синтезу біомаси із вказаних джерел вуглецю становить 50-73 %.

В цілому, даний спосіб є важливим для галузі технічним рішенням, оскільки вирішує задачу одержання і суттєвого збільшення виробітку цільового продукту в умовах зменшення кількості післяспиртової барди, пов'язаного зі зниженням виробітку спирту.

Таблиця

Найменування показника	Прототип	Запропонований спосіб
1	2	3
Продуцент біомаси	<i>C. tropicalis</i>	<i>C. tropicalis</i> + <i>C. utilis</i>
Накопичення в розрахунку на вихідне живильне середовище, г/л:		
біомаси	6,0-10,2	12,4-36,0
протеїну ($N_{\text{заг.}}$ 6,25)	4,3-5,1	7,18-18,58
білка	3,63 - 4,45	6,04-15,37
Вміст в абсолютно сухій біомасі, %:		
протеїну	до 53,8	до 57,9
білка	45,4	48,7
Економічний коефіцієнт синтезу біомаси із додатково внесених джерел вуглецю, %		50,6-73,0

ДП "Український інститут промислової власності" (Укрпатент)
Україна, 01133, Київ-133, бульв. Лесі Українки, 26
(044) 295-81-42, 295-61-97

Підписано до друку _____ 2001 р. Формат 60х84 1/8.
Обсяг _____ обл.-вид. арк. Тираж 50 прим. Зам. _____

УкрІНТЕІ, 03680, Київ-39 МСП, вул. Горького, 180.
(044) 268-25-22
