



СОЮЗ СОВЕТСКИХ  
СОЦИАЛИСТИЧЕСКИХ  
РЕСПУБЛИК

(19) **SU** (11) **1643606** **A1**

(51) **5 C 12 N 1/16 (C 12 N 1/16,  
C 12 R 1:72)**

ГОСУДАРСТВЕННЫЙ КОМИТЕТ  
ПО ИЗОБРЕТЕНИЯМ И ОТКРЫТИЯМ  
ПРИ ГИИТ СССР

# ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

## И АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ

(21) 4445108/13

(22) 20.06.88

(46) 23.04.91. Бюл. № 15

(71) Всесоюзный научно-исследова-  
тельский институт новых видов пище-  
вых продуктов и добавок

(72) А.Н.Осовик, Э.С.Адаменко,

Л.Е.Гридина, П.С.Кудырко,

Д.М.Коломиец, А.Н.Кривчун,

В.К.Соколовский и С.С.Нагорная

(53) 663.14(088.8)

(56) Забродский А.Г. Технология и  
контроль производства кормовых дрож-  
жей на меласной барде. - М.: Пище-  
вая промышленность, 1980, с. 28-31.

Исайкина Н.И. и др. Получение  
кормовых дрожжей из свеколовичной  
мелассы. - Сб. научных трудов  
ВНИИ гидролиз. - Л., 1982, с. 56-62.

(54) СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ БИОМАССЫ КОР-  
МОВЫХ ДРОЖЕЖИ

Изобретение относится к микро-  
биологической и пищевой промышлен-  
ности, а именно к способу получения  
биомассы, и может быть использовано  
при производстве кормовых дрожжей  
из свеколовичной мелассы.

Целью изобретения является повы-  
шение выхода биомассы и снижение рас-  
хода мелассы.

Способ заключается в том, что при  
получении биомассы, в условиях не-  
прерывно-проточного выращивания  
дрожжеподобных грибов на питательной  
среде из мелассы, обогащенной источ-

(57) Изобретение относится к микро-  
биологической и пищевой промышленно-  
сти, а именно к способу получения био-  
массы, и может быть использовано при  
производстве кормовых дрожжей из  
свеколовичной мелассы. Целью изобре-  
тения является увеличение выхода био-  
массы и снижение расхода мелассы.  
Способ заключается в том, что в не-  
прерывно-проточных условиях выращи-  
вают ассоциацию дрожжеподобных грибов  
*Candida tropicalis* ВКМ У-764 и *Can-  
dida utilis* на питательной среде,  
содержащей мелассу, источники азота  
и фосфора. Культуральную жидкость  
рециркулируют в процессе выращивания,  
добавляя ее к питательной среде в со-  
отношении питательная среда: культу-  
ральная жидкость 1:(2-3,5). Приведена  
характеристика нового штамма *C.tro-  
picalis* ВКМ У-764. 1 з.п. ф-лы,  
1 табл.

никами азота и фосфора, при рецирку-  
ляции культуральной жидкости выра-  
шивают ассоциацию дрожжеподобных гри-  
бов, содержащую *Candida tropicalis*  
ВКМ У-764 и *Candida utilis* П-35.  
Предпочтительно соотношение объемов  
питательной среды и рециркулируемой  
культуральной жидкости, соответст-  
венно, равное 1:(2-3,5).

Новый штамм дрожжей *C.tropicalis*  
ВКМ У-764 обладает способностью  
с высокой экономичностью интенсивно  
усваивать сахара мелассы и устойчи-  
во размножаться в ассоциации с из-

РПФ-К

(19) **SU** (11) **1643606** **A1**

вестным штаммом *C. utilis* J-35 при непрерывно-проточном культивировании. В монокультуре штамм *C. tropicalis* ВКПМ У-764 имеет низкую скорость роста на меласной среде, что обусловлено неспособностью его интенсивно размножаться на среде без витаминов группы В. Дрожжи *C. utilis* синтезируют витамины группы В, в которых нуждается штамм *C. tropicalis*. Кроме того, штамм *C. utilis* J-35 способен глубоко усваивать из питательной среды несахара мелассы, что повышает экономичность процесса в целом и в расчете на сахар мелассы. Чем выше концентрация несахаров мелассы в среде, тем в большей степени они усваиваются дрожжами. Применение рециркуляции культуральной жидкости, позволяющее уменьшить расход воды на разбавление мелассы и обеспечивающее повышение концентрации несахаров мелассы в среде, также способствует повышению экономичности синтеза биомассы заявляемой ассоциацией дрожжей. Рециркуляция культуральной жидкости после ее кислотного антисептирования предлагается в соотношении объемов меласного сусла (питательной среды) и культуральной жидкости соответственно 1:(2-3,5). При введении большего количества подкисленной до pH 2,0-2,7 культуральной жидкости понижается значение pH культуральной среды в дрожжерастительном аппарате (ферментере) ниже допустимого для данной ассоциации дрожжей значения pH 3,3-3,5. При этом снижается скорость роста дрожжей и экономичность синтеза биомассы. При меньшем количестве рециркулируемой культуральной жидкости уменьшается концентрация сухих веществ (СВ) мелассы, в том числе усваиваемых дрожжами несахаров мелассы, что приводит к снижению экономичности синтеза биомассы за счет уменьшения степени их использования. Кроме того, увеличивается объем производственных стоков и потребление воды для приготовления меласного сусла.

Характеристика штамма *Candida tropicalis* ВКПМ У-764.

Морфологические и физиологические характеристики. Величина клеток трехсуточной культуры на сусло-агаре при 25°C (4x8)-(5x11) мкм. Клетки овальные, почти круглые. Размножение кле-

ток - почкованием. На среде Городковой, ацетатном агаре, гипсовых блоках споры не образуются. На жидком сусле через 1 мес образуется кольцо и осадок. Колонии на сусло-агаре через 3 сут круглые, беловато-кремовые, складчатые, на поверхности образуются мицелий, края неровные, складчатые. Диаметр колоний 0,5-0,8 см. Штрих-культура беловато-кремовая, сухая, складчатая, образуется мицелий и псевдомицелий.

Сбраживает глюкозу, галактозу, сахарозу, мальтозу. Не сбраживает лактозу и рафинозу. Ассимилирует глюкозу, галактозу, сахарозу, мальтозу, целлобиозу, растворимый крахмал (слабо), d-ксилозу, салицин, α-метил и D-глюкозид. Не ассимилирует l-сорбозу, лактозу, рафинозу, инулин, l-арабинозу, d-арабинозу, d-рибозу и d-рамнозу.

Ассимилирует этанол, маннит и сорбит. Не ассимилирует глицерин и инозит.

Ассимилирует янтарную и лимонную кислоты. Не ассимилирует молочную кислоту.

Нитраты не усваивает. В среде без витаминов растет слабо. Растет при 37 и 42°C. Не патогенен.

Штамм хранится в ВКПМ ВНИИгенетики под номером У-764, и в коллекции ВНИИПД под номером К-2.

Дрожжи выращивают на питательной среде из свекловичной мелассы, полученной разбавлением ее до концентрации 6-9% сахара (9-15% СВ мелассы) и добавлением источников азота и фосфора в количестве 175 кг карбамида и 75 кг ортофосфорной кислоты (70%-ной) из расчета на 1000 кг сухих дрожжей. Выращивание осуществляют в непрерывно-проточном процессе при рециркуляции в ферментер культуральной жидкости после кислотного антисептирования (добавление соляной кислоты до pH 2,0-2,7, время выдерживания 1,5-2,0 ч) в соотношении объемов питательной среды (меласного сусла) и рециркулируемой культуральной жидкости соответственно 1:(2-3,5).

Процесс культивирования осуществляют в ферментере объемом 10 л (вместимостью 5,0 л) при скорости разбавления среды 0,18-0,22 ч<sup>-1</sup>, температуре 35-38°C, pH культураль-

ной среды 3,5-4,0, расходе воздуха на аэрацию 400 л/мин и скорости вращения мешалки в ферментере 15 с<sup>-1</sup> или в дрожжерастильном аппарате ДАУ-600 (емкостью 170 м<sup>3</sup> жидкости) при скорости разбавления среды 0,20-0,18 ч<sup>-1</sup>, температуре 36-39°C, pH культуральной среды 3,3-3,5, расходе воздуха на аэрацию при перемешивании культуральной среды 70-100 м<sup>3</sup>/м<sup>3</sup>ч.

Перед началом непрерывного процесса в ферментер набирают 5 л питательной среды, полученной разбавлением мелассы водой до 3,5% СВ (2% сахара). В питательную среду добавляют карбамид и ортофосфорную кислоту соответственно 1,8 и 0,8 г/л, начальное значение pH 4,5-5,0. Затем задают посевные дрожжи, размноженные из чистой культуры *C. tropicalis* ВКПМ У-764 и *Candida utilis* Л-35, в количестве 1,5-2,0 г АСД/л и ведут периодический процесс накопления биомассы в течение 5-6 ч.

В процессе роста дрожжей поддерживают заданное значение pH 4,5-5,0 добавлением раствора соляной кислоты. Перед началом непрерывного процесса понижают pH культуральной среды до 3,5-4,0 и начинают непрерывный отбор ее из ферментера и непрерывную подачу в него питательной среды, приготовленной для непрерывно-проточного процесса (6-9% сахара). Из отбираемой среды выделяют центрифугированием биомассу дрожжей. Полученную культуральную жидкость разделяют на две части, одну из которых после кислотного антисептирования рециркулируют в ферментер в заданном соотношении с питательной средой, а другую выводят из процесса.

В дрожжерастильном аппарате (емкостью 170 м<sup>3</sup> среды) периодический процесс наращивания биомассы осуществляют на питательной среде указанного состава. Для этого в аппарат набирают 20-30 м<sup>3</sup> питательной среды, подают воздух для аэрации ее и начинают непрерывную подачу посевных дрожжей из аппарата объемом 100 м<sup>3</sup> (емкостью 30 м<sup>3</sup> среды) в количестве 40-50 кг АСД/ч и одновременно непрерывно подают питательную среду указанного состава в количестве 25-30 м<sup>3</sup>/ч.

После заполнения аппарата (170 м<sup>3</sup>) продолжают периодический процесс на-

ращивания биомассы до полного использования сахара в среде и затем начинают непрерывный отбор из него культуральной среды и непрерывную подачу питательной среды. Отбираемую культуральную среду подвергают деэмульгированию по схеме с разделительным насосом с использованием эмульсии соапстока и подают на сепарирование для выделения и концентрирования биомассы дрожжей. Концентрат биомассы дрожжей направляют на термоллиз и высушивание на распылительной сушилке. Культуральную жидкость (сепарационные оттоки) разделяют в процессе сепарирования на две части. Рециркулируемую культуральную жидкость подвергают кислотному антисептированию (добавлением соляной и ортофосфорной кислоты) и непрерывно подают в заданном соотношении с питательной средой (6-9% сахара) в дрожжерастильный аппарат. Общий объем питательной среды и рециркулируемой культуральной жидкости, подаваемых в дрожжерастильный аппарат, составляет 30-35 м<sup>3</sup>/ч.

**Пример 1.** Питательную среду для выращивания биомассы дрожжей готовят разбавлением водой мелассы (1,23 кг), содержащей 78,1% СВ, в том числе 48,8% сахара, до объема 7,4 л. В приготовленном мелассном сусле содержится 8,01% сахара, концентрация сухих веществ равна 12,8%. В качестве источников азота и фосфора в сусло добавляют соответственно 9,0 г/л карбамида и 3,5 г/л ортофосфорной кислоты (70%-ной). При этом концентрация СВ в питательной среде составляет 13,5%.

Перед началом непрерывно-проточного выращивания биомассы дрожжей в течение 5 ч ведут периодический процесс ее накопления на питательной среде из мелассы (2,0% сахара, 1,9 г/л карбамида, 0,85 г/л ортофосфорной кислоты, pH 5,0, 3,5% СВ) при 36°C, расходе воздуха на аэрацию среды 400 л/ч, скорости вращения мешалки в ферментере 15 с<sup>-1</sup>. Для этого указанной питательной средой наполняют ферментер и засевают ее чистой культурой дрожжей, входящих в ассоциацию *C. tropicalis* ВКПМ У-764 и *C. utilis*

Л-35, в количестве 2 г АСД/л. В процессе накопления биомассы в культуральной среде поддерживают значение pH 4,5 добавлением раствора соляной кислоты. Через 5 ч культивирования снижают pH культуральной среды до 4,0 и начинают непрерывный отбор культуральной среды из ферментера и непрерывную подачу в него питательной среды.

В непрерывно-проточном процессе выращивание дрожжей осуществляют при подаче мелассной питательной среды (8,01% сахара) и рециркуляции в ферментер культуральной жидкости после кислотного антисептирования в соотношении 1:3. Процесс проводят в ферментере объемом 10 л (емкость 5,0 л среды). Образующуюся в среде при аэрации ее воздухом пену разрушают добавлением пеногасителя "Пропи-нол В-400". В процессе выращивания поддерживают скорость разбавления среды  $0,18 \text{ ч}^{-1}$ , температуру  $36^\circ\text{C}$ , pH культуральной среды 3,5, расход воздуха на аэрацию 400 л/ч при скорости вращения мешалки в ферментере  $15 \text{ с}^{-1}$ . Культуральную среду центрифугируют для выделения биомассы, а получаемую культуральную жидкость разделяют на две части: рециркулируемую в ферментер и выводимую из процесса. Рециркулируемую культуральную жидкость перед подачей в ферментер подкисляют соляной кислотой до pH 2,5 и выдерживают 2,0 ч. В установившемся непрерывно-проточном процессе концентрация биомассы в культуральной среде составляет 12,8 г АСД/л, что соответствует накоплению в 1 л исходной питательной среды 51,2 г АСД и выходу биомассы 63,9% от сахара мелассы. Концентрация сахара в культуральной жидкости составляет 0,06%. Расход мелассы (46% сахара) на 1 т АСД составляет 3,5 т.

**Пример 2.** Выращивание биомассы дрожжей осуществляют в дрожжерастильном аппарате ДАУ-600 (емкость 170 м<sup>3</sup>). Для наращивания биомассы в периодическом процессе в дрожжерастильный аппарат набирают 25 м<sup>3</sup> питательной среды, приготовленной из мелассы разбавлением водой (2,0% сахара, 1,7 г/л карбамида, 0,8 г/л ортофосфорной кислоты, при начальном значении pH 4,5, концентра-

ции СВ 3,5%) и подают воздух для аэрации и перемешивания. Затем непрерывно подают посевные дрожжи из дрожжегенератора (ферментер объемом 100 м<sup>3</sup>, емкостью 30 м<sup>3</sup>) в количестве 50 кг АСД/ч и одновременно подают питательную среду указанного состава в количестве 25 м<sup>3</sup>/ч. Для получения посевных дрожжей их размножают из чистой культуры (*C. tropicalis* ВКПМ У-764 и *C. utilis* Л-35) последовательно в колбах на качалке, ферментерах объемом 1,0 м<sup>3</sup>, 8 м<sup>3</sup> и в дрожжегенераторе 100 м<sup>3</sup>. После заполнения аппарата (170 м<sup>3</sup> среды) продолжают наращивание биомассы до содержания сахара в культуральной среде 0,1% и начинают непрерывный отбор из него культуральной среды и непрерывную подачу питательной среды из мелассы (9% сахара, 14,4% СВ), содержащей в качестве источников азота и фосфора соответственно карбамид и ортофосфорную кислоту из расчета соответственно 175 и 75 кг на 1 т товарных сухих кормовых дрожжей.

Непрерывно-проточный процесс выращивания биомассы осуществляют при соотношении объемов питательной среды и рециркулируемой культуральной жидкости соответственно 1:3,5. При этом скорость разбавления среды в аппарате  $0,18 \text{ ч}^{-1}$ , температура  $38^\circ\text{C}$ , pH культуральной среды 3,4, расход воздуха на аэрацию и перемешивание среды 90 м<sup>3</sup>/м<sup>3</sup>ч. При аэрации и перемешивании среды в аппарате воздухом она вспенивается. Выращивание дрожжей ведут без разрушения пены при одинаковом газосодержании в среде во всем объеме ее. В установившемся процессе концентрация биомассы в культуральной среде равна 11 г АСД/л (45 г/л биомассы 75%-ной влажности), концентрация сахара 0,03%. Отбираемую из аппарата вспененную культуральную среду дезмульгируют по схеме с разделительным насосом с использованием в качестве пеногасителя эмульсии соапстока и направляют на сепарацию (3 ступени сепараторов) для выделения и концентрирования биомассы дрожжей. Концентрат биомассы дрожжей (550-600 г/л 75%-ной влажности) подвергают термализу и высушивают на распылительной сушилке. Культуральную жидкость (сепарационные оттоки) разделяют в про-

цессе сепарации на две части. На рециркуляцию в дрожерастильные аппараты направляют в полном объеме культуральную жидкость от сепараторов II и III ступеней, а от I ступени сепарации рециркулируют только часть ее объема. Оставшуюся часть культуральной жидкости от I ступени сепараторов выводят из процесса. Перед подачей в дрожерастильный аппарат рециркулируемую жидкость подвергают кислотному антисептированию, добавляя соляную и ортофосфорную кислоты до значения pH 2,5 и выдерживая ее в течение 2 ч. Антисептированную культуральную жидкость и питательную среду (9% сахара) в заданном соотношении (при общем объеме 31 м<sup>3</sup>/ч) непрерывно подают в дрожерастильный аппарат. Выработка товарных кормовых дрожжей составляет 10 т/сут при расходе 3,35 т мелассы (46% сахара) на 1 т сухих кормовых дрожжей.

Увеличение объема рециркулируемой культуральной жидкости после кислотного антисептирования при pH 2,3 до соотношения объемов мелассного сусла (питательной среды) и культуральной жидкости соответственно 1:4 приводят к снижению значения pH культуральной среды до 2,8. При этом экономический коэффициент синтеза биомассы в расчете на сахар мелассы снижается до 48%, что соответствует расходу мелассы (46% сахара) на 1 т биомассы дрожжей 4,53 т.

При уменьшении объема рециркулируемой культуральной жидкости после кислотного антисептирования при pH 2,0 до соотношения объемов пита-

тельной среды и культуральной жидкости соответственно 1:1,5 увеличивает количество воды, расходуемой на приготовление питательной среды, и уменьшается экономический коэффициент синтеза биомассы до 58% в расчете на сахар мелассы, что соответствует расходу мелассы (46% сахара) на 1 т дрожжей 3,75 т.

Данные приведены в таблице.

Таким образом, применение предлагаемого способа получения биомассы кормовых дрожжей позволяет увеличить выработку сухих кормовых дрожжей из свекловичной мелассы и снизить себестоимость товарного продукта.

#### Ф о р м у л а и з о б р е т е н и я

1. Способ получения биомассы кормовых дрожжей, предусматривающий культивирование дрожжеподобных грибов в непрерывно-проточных условиях на питательной среде, содержащей мелассу в качестве источника углерода, источники азота и фосфора, при рециркуляции культуральной жидкости, и введение ее в питательную среду, отличающийся тем, что, с целью увеличения выхода биомассы и снижения расхода мелассы, из дрожжеподобных грибов используют ассоциацию штаммов *Candida tropicalis* ВКПМ У-764 и *Candida utilis* Л-35.

2. Способ по п.1, отличающийся тем, что рециркулируемую культуральную жидкость вводят в питательную среду в соотношении питательная среда:культуральная жидкость, равном 1:(2,0-3,5).

Показатели	Известный способ (базовый объект)	Предлагаемый способ при соотношении питательной среды и культуральной жидкости		
		1:(2-3,5)	1:1,5	1:4
Количество переработанной мелассы (46% сахара), т	100	100	100	100
Выработано кормовых дрожжей, т	25,0	29,85	26,7	22,0
Расход мелассы (46% сахара) на 1 т товарных сухих кормовых дрожжей	4,0	3,35-3,5	3,75	4,5

Редактор Н.Рогулич      Составитель В.Голимбет  
Техред М.Моргентал      Корректор О.Кранцова

---

Заказ 1221      Тираж 384      Подписное  
ВНИИПИ Государственного комитета по изобретениям и открытиям при ГКНТ СССР  
113035, Москва, Ж-35, Раушская наб., д. 4/5

---

Производственно-издательский комбинат "Патент", г. Ужгород, ул. Гагарина, 101