

В настоящее время остро стоит проблема дефицита кормового белка для питания животных. Основным источником получения протеина животными — корма растительного происхождения. Однако по содержанию и соотношению аминокислот протеин растений в большинстве своем не соответствует потребностям животного организма в обеспечении процессов интенсивного биосинтеза белков [2, 5]. Белок основных растительных кормов (зерновые культуры, картофель, сахарная свекла, кормовые травы и др.) содержит недостаточное количество витаминов, ферментов, микроэлементов, а главное, незаменимых аминокислот.

В странах СНГ было создано крупномасштабное производство белка для кормовых целей на основе углеводов нефти, гидролизатов древесины, отходов пищевой промышленности. Сложившаяся современная экономическая обстановка, высокие цены на нефть и природный газ привели к перепрофилированию заводов, выпускающих белково-витаминные препараты и использующих продукты переработки нефти, на выпуск другой продукции.

Восполнить дефицит кормового протеина, на наш взгляд, могут промышленные методы производства белковых веществ, основанные на культивировании низших организмов: дрожжей, бактерий, грибов на непищевых сырьевых источниках, среди которых возрастает роль биоконверсии в белковые продукты возобновляемых целлюлозо-зопектин- и крахмалсодержащих растительных субстратов, а также отходов пищевой промышленности и сельского хозяйства [12, 13, 15]. Микробиологическая трансформация целлюлозы в белок будет способствовать улучшению экологической обстановки [3].

Нами разработан способ получения белково-витаминных концентратов (БВК) культивированием дрожжей на питательной среде, полученной из преддефекационного или предсатурационного осадка как нетрадиционного сырья [1].

Преддефекационный осадок, образующийся при обработке диффузионного сока небольшим количеством извести, содержащий 40—65,8 % органических веществ, сырой протеин, минеральные и органические кислоты, макро- и микроэлементы сахарной свеклы, по существующей технологии вместе с фильтрационным осадком 1 сатурации выводится на очистные сооружения, что становится источником значительного загрязнения окружающей среды.

В качестве продуцентов белка нами были использованы штаммы монокультур дрожжей: *Candida scottii* КС-2, *Candida scottii* Тул, *Candida utilis* (Henneb), *Candida guilliermondii*, *Candida tropicalis*, *Candida parapsilosis*, *Trichosporon cutaneum* БД-2. Для лабораторного культивирования преддефекационный осадок разбавляли дистиллированной водой, в полученное сусло добавляли сульфат алюминия и фосфорную кислоту из расчета 2,3 и 1,2 г на 1 дм³ соответственно. Среду подкисляли серной кислотой до величины рН 4,4—7,0.

Наиболее перспективными продуцентами белка из исследованных штаммов оказались *Trichosporon cutaneum* БД-2 и некоторые виды *Candida*: *Candida scottii* КС-2, *Candida parapsilosis*. Активная кислотность действует на дрожжи непосредственно и косвенно, изменяя диссоциацию отдельных веществ питательной среды, что сказывается на метаболизме и скорости роста клеток. Оптимальным для исследуемых штаммов дрожжей является рН 4,9—5,2, содержание редуцирующихся веществ в питательной среде 1,8—2,2 %, температура 30—32 °С.

Хорошим сырьем для производства кормовых дрожжей служит меласная послеспиртовая барда. Для более полного использования биосинтетической активности дрожжей в микробиологической промышленности применяют способ сбраживания меласной барды двумя культурами в двухстадийном процессе брожения. Одна культура дрожжей основная, на которой происходит брожение, а другая — подсевная и вводится на более поздней стадии [9].

Как показали наши исследования, биосинтетическая активность накопления биомассы значительно возрастает (более чем на 30 %) при культивировании на первой стадии *Candida scottii* Тул, *Candida scottii* КС-2 и на второй стадии (с подсевом второй культуры через 24 ч) — *Trichosporon cutaneum*.

При выращивании дрожжей на питательной среде, содержащей разные органические карбоновые и дикарбоновые кислоты, имеет место явление полиауксии, т.е. последовательная их ассимиляция, обусловленная взаимной конкуренцией. Дрожжи *Trichosporon cutaneum* не могут быть применены в монокультуре из-за меньшей скорости размножения по сравнению со штаммами дрожжей *Candida*, вытесняющих их при непрерывном культивировании. Дрожжи *Candida* быстро размножаются при наличии в питательной среде легко усваиваемых источников углерода: глюкозы, молочной кислоты, глицерина и пирролидонкарбоновой кислоты. Дрожжеподобные грибы *Trichosporon cutaneum* имеют существенное преимущество, так как способны использовать более трудноусваиваемые вещества: пептиды, амиды, пептоны [9].

Опытно-промышленные испытания разработанной нами технологии выращивания БВК были проведены на Киевском заводе медицинских препаратов (цех бактериальных препаратов). Для этого преддефекационный осадок разбавляли водой, а затем в полученное сусло вносили фосфорное и азотное питание из расчета 230 г ортофосфорной кислоты и 120 г сульфата аммония на 100 дм³ питательной среды. Чтобы подавить микрофлору и создать оптимальные условия культивирования, сусло подкисляли серной кислотой до pH 5,0±0,1. Ферментер стерилизовали в течение 1 ч при температуре 120+1 °С, а сусло охлаждали до 30 °С. Максимальный выход БВК получили сбраживанием двух культур дрожжей при культивировании в две стадии. Сначала засеивали *Candida scottii*, а через 25 ч подсевали *Trichosporon cutaneum* и выращивали БВК в течение 50 ч.

Опыты показали, что накопление АСД при культивировании дрожжей *Candida scottii* через 25 ч составило 12,22 г/дм³, а после подсева *Trichosporon cutaneum* БД-2 еще через 25 ч — 17,17 г/дм³.

Вследствие биоконверсии углеводов питательных субстратов содержание белка увеличилось с 3,33 % (питательная среда) до 28,0 % (АСД), т.е. в 8,4 раза. Выращенный в производственных условиях БВК на основе преддефекационного осадка содержит 28,0 % белка, 2,95 % клетчатки, 1,66 % нуклеиновых кислот (ДНК и РНК), 0,84 % фосфора, 2,2 % кальция, 0,40 % калия, 8,78 % жиров. В составе липидов БВК обнаружены нативные и омыленные жирные кислоты: миристиновая, пальмитоолеиновая, олеиновая, пальмитиновая, стеариновая, линолевая; в составе белка — все жизненно необходимые незаменимые аминокислоты: лизин, метионин, триптофан, аргенин, гистидин, валин, лейцин, изолейцин, треонин. Биологическая ценность органоминерального премикса по Карпачи составила 58,18 %.

Таблица 1. Накопление биомассы при культивировании смешанных культур дрожжей на среде из преддефекационного осадка с добавлением и без добавления мелассы

Культура дрожжей	Способ внесения культур	Длительность культивирования, ч	Биомасса АСД, г/дм ³	Содержание			Продуктивность по белку, г/дм ³
				общего азота, % (N _{общ})	сырого протеина, % (N _{общ} · 6,25)	сырого протеина, % на СВ АСД	
Без добавления мелассы							
Saccharomyces cerevisiae ЛК-14 + Trichosporon cutaneum БД-2	Смесь культур	48	10,75				
Saccharomyces cerevisiae ЛК-14 + Trichosporon cutaneum БД-2	Подсев через 18 ч	48	10,37				
Candida scottii Тул + Trichosporon cutaneum БД-2	Смесь культур	48	13,97	4,368	27,30	28,74	4,09
Candida scottii Тул + Trichosporon cutaneum БД-2	Подсев через 18 ч	48	14,29	4,466	27,95	29,38	4,19
С добавлением 4 % мелассы							
Saccharomyces cerevisiae ЛК-14 + Trichosporon cutaneum БД-2	Смесь культур	48	14,86	–	–	–	–
Saccharomyces cerevisiae ЛК-14 + Trichosporon cutaneum БД-2	Подсев через 18 ч	48	12,81	–	–	–	–
Candida scottii Тул + Trichosporon cutaneum БД-2	»	48	24,99	4,529	28,31	29,8	7,45
Candida scottii Тул + Trichosporon cutaneum БД-2	»	48	23,95	4,648	29,05	30,58	7,32

Целью наших дальнейших исследований было установить необходимость дополнительного введения в питательную среду мелассы, как источника сахара и биологически активных веществ, способ внесения посевного материала, а также возможность использования жомопрессовой воды для приготовления питательной среды.

Один из основных факторов, влияющий на быстрое развитие микроорганизмов и максимальный синтез ими биологически активных веществ, — полноценная питательная среда, главные компоненты которой углерод, азот и фосфор. К наиболее доступным источникам углерода относятся углеводы и, в первую очередь, моносахариды, а азота — ионы аммония NH_4^+ и аммиака [9]. Для нормального развития и жизнедеятельности микробной клетки питательная среда должна содержать одно- и двухзамещенные фосфаты. Фосфор входит в состав наиболее активных соединений протоплазмы — фосфолипидов.

Состав питательной среды подбирали методом однофакторного эксперимента по продуктивности истинного белка. В качестве продуцентов БВК брали штаммы дрожжей *Candida utilis* Л-35, *Candida scottii* КС-2, *Candida utilis* Л-22, *Candida scottii* Тул, *Trichosporon cutaneum* БД-2 и БД-1, а также *Saccharomyces cerevisiae* ЛК-14. Наибольшей продуктивностью по белку в наших опытах обладали

ассоциации дрожжей *Candida scottii* Sp и *Trichosporon cutaneum* БД-2, а также *Candida scottii* Тул и *Trichosporon cutaneum* БД-2.

Исследования подтвердили целесообразность дополнительного внесения в питательные субстраты до 4 % мелассы, а также минеральных солей: сернокислого алюминия, фосфорной кислоты и карбамида в количестве 2,3, 1,2 и 0,15 г на 1 дм³ как дополнительного источника фосфора и азота. Например, при совместном культивировании ассоциаций дрожжей *Candida scottii* и *Trichosporon cutaneum* БД-2 на питательной среде без мелассы накопление биомассы дрожжей составило 16,21 г/дм³, содержание сырого протеина – 28,09 %, продуктивность по белку — 4,79 г/дм³, а с мелассой – 23,27 и 22,54 г/дм³, содержание сырого протеина на 100 г СВ АСД — 28,78 и 29,01 %, продуктивность по белку — 6,70 и 6,54 г/дм³ соответственно.

При двухстадийном культивировании штаммов дрожжей *Candida scottii* Тул с подсевом *Trichosporon cutaneum* БД-2 через 18 ч на питательной среде с мелассой накопление биомассы дрожжей через 48 ч составило 24,99 и 23,95 г/дм³, содержание сырого протеина – 29,8 и 30,58 г на 100 г СВ АСД, продуктивность по белку 7,45 и 7,32 г/дм³, на среде без мелассы накопление биомассы — 14,29 г/дм³, продуктивность по белку — 4,19 г/дм³ (табл. 1).

Причина увеличения биосинтетической активности при добавлении мелассы в питательные субстраты в том, что синтез белка, нуклеиновых кислот, жиров, витаминов и других соединений дрожжами происходит за счет энергии, выделяемой в результате окисления и распада поступающих в клетки питательных веществ. В энергетическом обмене дрожжами используются углеводы, сахара, спирты, органические кислоты, азотистые соединения (аминокислоты, аммиачный и аминный азот и др.), зольные элементы и микроэлементы мелассы [9]. Увеличение концентрации мелассы в питательной среде до 8,0 % оказалось нецелесообразно, так как прирост биомассы АСД не был пропорционален количеству затрачиваемого сахара. Многие исследователи отмечали замедленное размножение дрожжей при увеличении содержания СВ в питательной среде, обусловленное повышением осмотического давления [6, 10, 11]. На средах с повышенным содержанием редуцирующих веществ клетки, теряя свободную воду, замедляют биосинтетическую активность [7].

Промышленные испытания технологии получения ББК с использованием коагулята несахаров предварительной дефекации и мелассы были проведены совместным культивированием штаммов дрожжей *Candida scottii* КС-2 и *Trichosporon cutaneum* БД-2. Продукенты культивировали погружным способом в ферментере вместимостью 1000 дм³ на среде, содержащей 20 % осадка, мелассу и минеральные добавки, г/дм³: мелассы – 33, (NH₄)SO₄—2,3; Н₃РО₄— 1,2; Н₂NCONH₂—0,15.

Технология совместного культивирования включала две стадии. Первая — приготовление посевного материала чистых культур дрожжей в пробирках на скошенной агаризованной питательной среде. Выращенную культуру стерильно смывали и переносили в колбы Эрленмейера вместимостью 750 см³, которые содержали 100 см³ жидкой питательной среды, состоящей из (г/дм³): мелассы — 100, (NH₄)SO₄—0,6; Н₂NCONH₂—0,15.

Чистые культуры дрожжей выращивали на качалках (180—240 мин) при температуре 28 °С в течение 24 ч. Вторая стадия — собственно ферментация. при

		культур	рования, ч			% на 100 г СВ АСД	
I	Candida scottii КС-2 + Trichosporon cutaneum БД-2	Смесь	24	24,29	20,26	24,61	5,98
	Candida scottii КС-2 + Trichosporon cutaneum БД-2	»	48	27,25	23,48	25,37	6,91
II	Candida scottii КС-2 + Trichosporon cutaneum БД-2	»	24	21,51	19,20	20,20	4,34
	Candida scottii КС-2 + Trichosporon cutaneum БД-2	»	48	23,48	23,30	24,52	5,76

Минеральный состав АСД представлен 14 макро- и микроэлементами, значительную часть из них составляет кальций — 6,2 %, фосфор — 2,34 %, калий — 0,31 % к массе АСД. Кальций наиболее трудноусваиваемый элемент кормов, который способствует формированию скелета, фосфор тесно связан с кальциевым обменом. В состав кормовой биомассы также входят семь незаменимых микроэлементов (биометаллов), мг/кг: железо — 1243,5; медь — 14,36; цинк — 346,4; марганец — 119,7; кобальт — 14,17; хром — 6,9; никель — 7,4, имеющих важное значение в регулировании жизненных процессов.

Многие функции ферментов хорошо коррелируют с содержанием микроэлементов в кормах. Например, железо входит в состав гемоглобина, миоглобина и ряда основных окислительных ферментов — цитохрома, пироксидазы, цитохромо-ксидазы, обеспечивает доставку кислорода и тканевое дыхание [4, 8]. Медь совместно с железом участвует в процессах кроветворения, в синтезе гемоглобина, стимулирует созревание эритроцитов.

Особая ценность кормовых дрожжей обусловлена наличием в них комплекса витаминов группы В: тиаминана (В₁), рибофлавина (В₂), пантотеновой кислоты (В₃), холина (В₄), никотиновой кислоты (В₃), пиродоксина (В₆), биотина (В₇), инозита (В₈). Суммарное содержание витаминов этой группы составляет 4553,5—10375,7 мг/кг.

Таким образом, кормовые дрожжи, полученные из нетрадиционного сырья (предфекационного осадка), являются ценным биологически активным продуктом и могут быть использованы как белково-витаминная добавка, содержащая эссенциальные аминокислоты, незаменимые микроэлементы (биометаллы), липиды и нуклеиновые кислоты (ДНК, РНК).

ЛИТЕРАТУРА

1. АС. 1595900 СССР, МКИС12М 1/16. Способ получения кормовой биомассы / С.П. Олянская, О.П. Ткаченко, Т.П. Слюсаренко и др. – Б.И., 1990. № 36.
2. Бабицкая В.Г., Стахаев И.В., Костина А. М. Образование белка смешанными культурами гриба *Penicillium 24П* и дрожжей // Микробиологическая промышленность. 1977. № 11. – С. 32 – 35.
3. Бабицкая В.Г., Стахеев И.В., Плавская А.М. Мицеллиальные грибы — продуценты белка на целлюлозе // Микробиология и фитопатология. 1979. № 12. С. 118 – 122.
4. Биологически активные вещества пищевых продуктов. Справочник / В.В. Петрушевский, А.Л. Козаков, А. Бандюкова и др. – Киев: Техшка, 1985. – 127 с.
5. Вальдман А.Р., Бекер В.Д. Актуальные проблемы аминокислотного и витаминного питания животных // Прикладная биохимия и микробиология. 1982. № 6. С. 778 – 791.
6. Жеребцов Н.А., Букова В.В. Влияние осмотического давления среды на спиртовое брожение и размножение дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* // Ферментная и спиртовая промышленность. 1978. № 5. С. 10 – 13.
7. Калюжный М.Д., Петрушко Г.М. Внутриклеточное давление дрожжевой клетки и уточнение его определения // Сборник трудов НИИГС. 1962. Т. 10. – С. 117 – 123.
8. Мосичев М.С., Складнее А.А., Котов В.Б. Общая технология микробиологических производств. – М.: Легкая и пищевая промышленность, 1982. – 262 с.
9. Переработка мелассы на спирт и другие продукты по безотходной технологии / В. Г. Артюхов, В.Г. Гарбаренко, Я.С. Гайворонский и др. – М.: Агропромиздат, 1985. – 287 с.
10. Пузыревская О. М. Зависимость между осмотическими свойствами дрожжей и их способностью утилизировать повышенные концентрации сахара // Труды института микробиологии и вирусологии и АН Казахской ССР, 1974. Т. 20. С. 28 – 30.
11. Розманова И.В., Палагина Н.К., Хрычева А.И. Интенсивность размножения дрожжей в зависимости от концентрации среды // Хлебопекарная и кондитерская промышленность. 1981. № 1. С. 40 – 43.
12. Рычков Ф.С. Актуальные проблемы развития микробиологической промышленности // Журнал Всесоюзного микробиологического общества. 1982. Т. 27. № 6. – С. 613 – 617.
13. Reib J. Der Einsatz von Mikroorganismen zur Gewinnung von Eiweiß // Prakt. Naturwiss. Biol. 1982. Vol. 31. № 10. P. 300 – 304.
14. Система научного и инженерного обеспечения пищевых и перерабатывающих отраслей АПК России / А.Н. Богатырев, В.А. Панфилов, В.И. Тужилкин и др. – М.: Пищевая промышленность, 1995. – 528 с.
15. Скрябин Г. К., Ерошин В.К. Биотехнологическое получение белка. Биотехнология / Под ред. А.А. Бабаева. – М.: Наука, 1984. С. 41 – 47.