

УДК 630\*863:602.4

**В. С. Болтовский**

Белорусский государственный технологический университет

**БИОКОНВЕРСИЯ ПОЛИСАХАРИДОВ РАСТИТЕЛЬНОГО СЫРЬЯ В БЕЛОК:  
АЛЬТЕРНАТИВЫ ПРОМЫШЛЕННОЙ РЕАЛИЗАЦИИ**

В статье выполнен сравнительный анализ основных способов микробиологической конверсии растительного сырья в белок: получением биомассы кормовых дрожжей биохимической переработкой гидролизатов растительного сырья и прямой биоконверсией полисахаридов сырья с целью его обогащения белком. Предложены конструкция аппарата твердофазной ферментации растительного сырья прямым культивированием микроорганизмов и технологическая схема процесса.

**Ключевые слова:** растительное сырье, биоконверсия, белок, кормовые дрожжи, белокосодержащая кормовая добавка, твердофазная ферментация, ферментатор, технологическая схема.

**V. S. Boltovskiy**

Belarusian State Technological University

**BIOCONVERSION OF POLYSACCHARIDES OF VEGETABLE RAW MATERIALS  
IN PROTEIN: ALTERNATIVES TO INDUSTRIAL IMPLEMENTATION**

The article presents a comparative analysis of the main methods of microbiological conversion of plant raw materials into protein: obtaining feed yeast biomass by biochemical processing of plant raw material hydrolysates and direct bioconversion of raw material polysaccharides in order to enrich it with protein. The design of the apparatus for solid-phase fermentation of plant raw materials by direct cultivation of microorganisms is proposed and the technological scheme of the process is developed.

**Key words:** plant raw materials, bioconversion, protein, feed yeast, protein-containing feed additive, solid-phase fermentation, fermenter, process flow.

**Введение.** В настоящее время во многих странах, в т. ч. и Республике Беларусь, ощущается дефицит в кормовом белке и высококачественных кормах для сельскохозяйственных животных и птицы.

Одним из перспективных путей преодоления этой проблемы является получение белка микробным синтезом.

Основными способами биоконверсии растительного сырья в белок являются: получение биомассы кормовых дрожжей микробиологической переработкой гидролизатов, полученных кислотным гидролизом растительного сырья, и прямым культивированием микроорганизмов на растительной биомассе с целью ее обогащения белком [1, 2]. Кроме того, возможен вариант биоконверсии в биомассу этанола и органических кислот, полученных биотрансформацией целлюлозы растительного сырья.

В данной статье выполнен сравнительный анализ основных технологических процессов биоконверсии растительного сырья в белок, разработаны конструкция аппарата для прямой биоконверсии сырья методом твердофазной ферментации и технологическая схема процесса.

**Основная часть.** Технология производства кормовых дрожжей ферментацией гидролизатов растительного сырья, которая длительное время применялась в промышленности,

хорошо известна [3] и включает следующие операции (рис. 1):

– кислотный гидролиз растительного сырья с применением разбавленного (0,5%-ного) раствора серной кислоты при повышенных температуре (150–190°C в зависимости от применяемого сырья и режима процесса) и давлении с получением гидролизата с содержанием около 3,5% редуцирующих веществ (характеризующих количество моносахаридов);

– подготовка гидролизата, содержащего различные примеси, снижающие его биологическую доброкачественность, к биохимической переработке (самоиспарение, инверсия пентозного гидролизата после первой стадии двухстадийного гидролиза для перевода олигосахаридов и декстринов в моносахариды, нейтрализация гидролизата известковым молоком и аммиаком, осветление отстаиванием для удаления гипсового шлама, охлаждение до температуры ферментации);

– глубинная ферментация суслу с использованием дрожжей, чаще всего рода *Candida*, с получением культуральной жидкости (КЖ) с содержанием до 40 г/л дрожжей (по прессованному), или 1% по сухому веществу;

– сушка концентрированной дрожжевой суспензии с получением сухих дрожжей 10%-ной влажности.

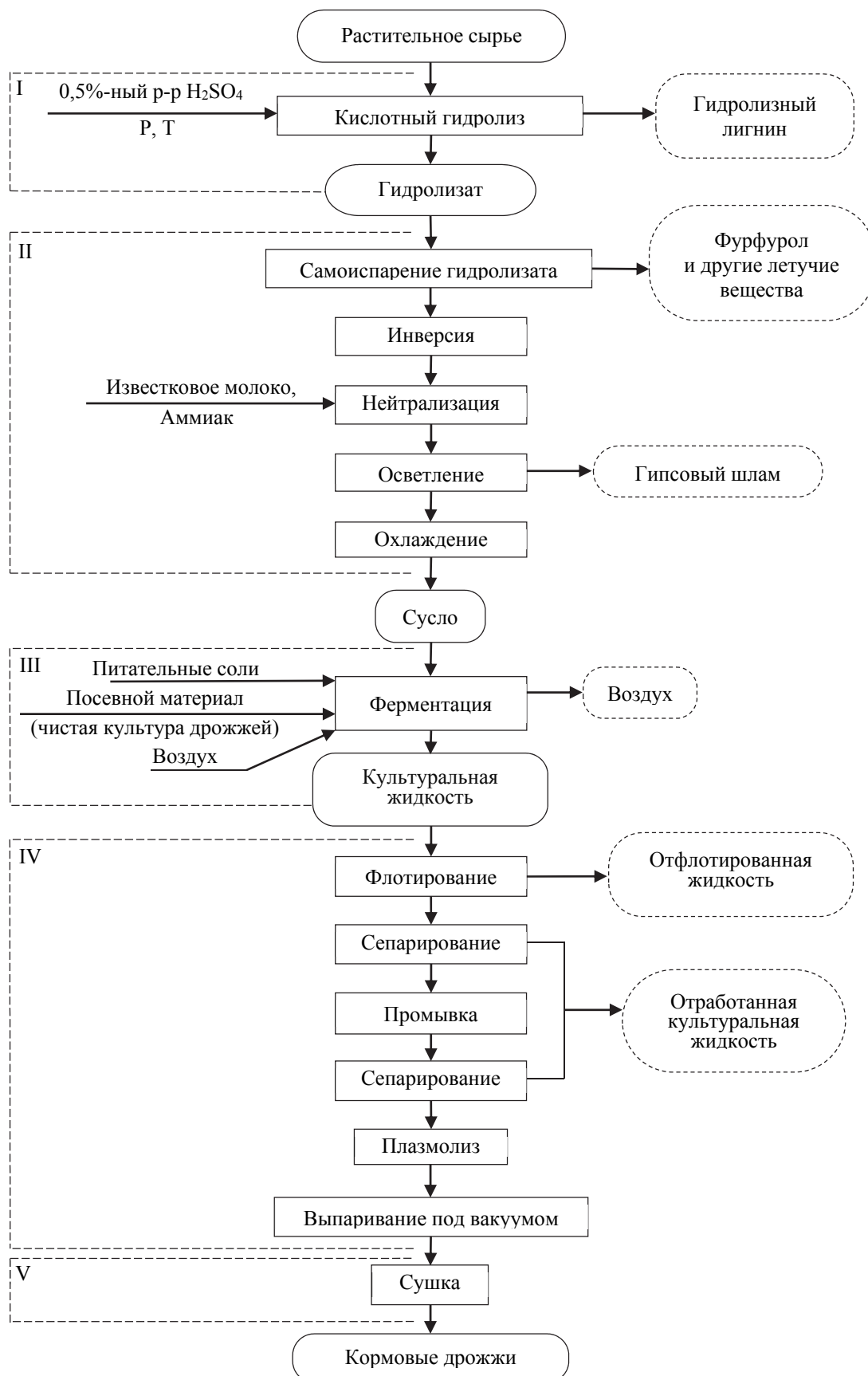


Рис. 1. Принципиальная схема получения кормовых дрожжей биотехнологической переработкой гидролизатов растительного сырья:  
 I – гидролиз растительного сырья; II – подготовка гидролизата к биохимической переработке;  
 III – ферментация; IV – концентрирование дрожжевой суспензии; V – сушка

Наиболее существенными недостатками производства кормовых дрожжей являются его многостадийность, невысокий выход (180–210 кг из 1 т абсолютно сухого сырья), высокая энергоемкость основных технологических операций (для получения 1 т кормовых дрожжей требуется [3] 50–60 ГДж технологического пара, 1700–2000 кВт·ч электроэнергии, 0,7–0,8 т условного топлива, большой расход воды (до 300 м<sup>3</sup> воды) и образование значительного количества сточных вод, отходов и выбросов в атмосферу, что привело в настоящее время к снижению конкурентоспособности кормовых дрожжей на рынках сбыта и практически приостановлению их производства.

Альтернативой данному способу является прямая биоконверсия растительного сырья под действием ферментных систем микроорганизмов, которые деполимеризуют полисахариды до моносахаридов, утилизируют их накапливая биомассу и обеспечивая обогащение сырья белком.

Технологический процесс заключается в следующем:

- предварительная подготовка растительного сырья (наиболее целесообразно использование растительных отходов сельскохозяйственного производства или целлюлозно-лигнина – остатка после гидролиза гемицеллюлозы сырья при двухстадийных способах гидролиза) одним из многочисленных способов, например гидро-термической и (или) механической обработкой;
- глубинная ферментация в виде нерастворимого субстрата или твердофазная ферментация (ТФФ) в массе твердого субстрата;
- отделение полученного продукта от жидкой фазы при использовании метода глубинной ферментации;
- сушка продукта;
- измельчение.

При этом способе обеспечивается значительное сокращение технологических операций и энергозатрат, повышается экологическая безопасность производства. В то же время для эффективного осуществления процесса и уменьшения его продолжительности необходима предварительная обработка сырья для повышения реакционной способности основного по количеству содержанию и наиболее трудно-метаболизируемого полисахаридного компонента – целлюлозы.

При осуществлении прямой биоконверсии растительного сырья микроорганизмами (наиболее целесообразно – мицелиальными грибами [2]) основной технологической операцией является ферментация.

Однако применение на практике глубинного способа ферментации в виде нерастворимых

лигноцеллюлозных субстратов требует наличия оборудования большой емкости и существенного увеличения производственных площадей, а также последующего отделения продукта от культуральной жидкости и очистки значительных объемов сточных вод.

Кроме того, показано [1], что продуктивность процесса глубинной ферментации нерастворимого субстрата при его относительно низкой концентрации (2% от массы сухого вещества субстрата) в 2 раза ниже, чем при твердофазном культивировании. Увеличение концентрации субстрата ухудшает реологические свойства среды и массопередачу кислорода клеткам микроорганизмов.

Поэтому с точки зрения промышленной реализации наибольший интерес представляет биоконверсия методом твердофазной ферментации в массе субстрата.

Особенности процесса ТФФ достаточно полно изложены в работах [4, 5].

В промышленных масштабах ТФФ традиционно применяется при производстве антибиотиков, ферментов, органических кислот и других продуктов, получаемых в сравнительно небольших количествах. В настоящее время одной из нерешенных проблем прямой биоконверсии растительного сырья является отсутствие конструкций ферментаторов, обеспечивающих возможность крупнотоннажного производства кормовых добавок и необходимую эффективность процесса.

Исследован процесс [6] и разработан аппарат для твердофазной ферментации [7], конструкция которого обеспечивает увеличение производительности и эффективности биоконверсии лигноцеллюлозных субстратов по сравнению с известными в настоящее время конструкциями.

Конструктивно аппарат представляет собой вертикально расположенные зигзагообразные секции с размещенными внутри каждой перемещающих устройств в виде наклонного вала с рядом лопаток вдоль и поперек вала, что позволяет перемещать субстрат под действием собственного веса и способствует равномерному и полному заполнению секций субстратом и удалению из него материала.

Основными лимитирующими факторами, влияющими на скорость и эффективность аэробной ферментации, являются обеспечение необходимого доступа кислорода воздуха к клеткам микроорганизмов (что особенно сложно обеспечить при ТФФ в массе нерастворимого субстрата) и необходимость отвода тепла, выделяющегося при жизнедеятельности микроорганизмов в процессе ферментации, для обеспечения требуемой температуры процесса.

Более равномерное распределение воздуха в объеме субстрата и создание свободного пространства для прохода воздуха в разработанной конструкции ферментатора (по сравнению с существующими) обеспечивается наличием в секциях перфорированных перегородок в виде жалюзей, пластины которых отогнуты в сторону движения твердой фазы.

Для равномерного охлаждения субстрата и отвода от него тепла в каждой секции аппарата предусмотрено охлаждающее устройство в виде труб.

Указанные особенности конструкции аппарата позволяют повысить его производительность и эффективность процесса ферментации за счет более полного использования объема секций, равномерного распределения воздуха в объеме субстрата и отвода от него тепла.

Разработан технологический процесс биоконверсии растительного сырья методом ТФФ с использованием данного ферментатора (рис. 2).

Процесс осуществляется следующим образом. Предварительно подготовленное растительное сырье (например, целлюлогин после жидкофазного или парофазного гидролиза гемицеллюлоз, измельченная и пропаренная солома) смешивается в смесителе лопастного типа с раствором питательных солей.

Для приготовления субстрата могут быть использованы естественные питательные среды с высоким содержанием углерода, азота и других питательных веществ (сусло-агар, сусло-бульон, неохмеленное пивное сусло, молочная сыворотка и др.) или синтетические (среда Чапека, среда Ридер и др.). Кислотность питательной среды поддерживается в пределах pH 5,0–5,5. Все среды или их ингредиенты стерилизуются автоклавированием ( $P = 0,11\text{--}0,12$  МПа в течение 40 мин) и охлаждаются до 30°C.

Затем субстрат инокулируется в смесителе с необходимым количеством посевного материала в виде суспензии микроорганизмов.

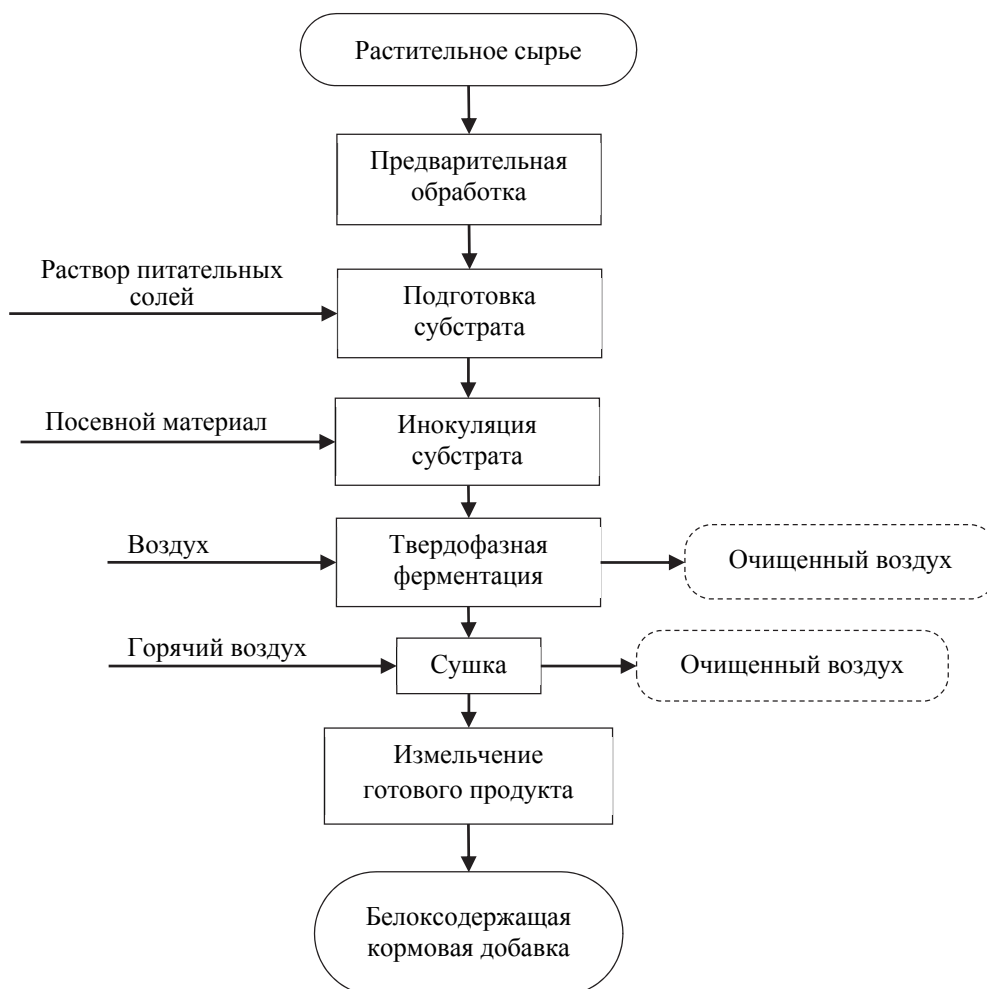


Рис. 2. Принципиальная схема прямой биоконверсии растительного сырья способом твердофазной ферментации

Посевной материал (инокулюм) микромицетов – продуцентов белка готовится в отделении чистой культуры с соблюдением общепринятых правил асептики, т. е. исключая контаминацию чистой культуры посторонней микробиотой. Для приготовления инокулюма, включающего ассоциацию микромицетов, каждый штамм гриба выращивается отдельно.

Оптимальный период инкубации мицелиального инокулюма зависит от вида культуры и для слабоспорносающих штаммов составляет 24–36 ч.

Количество инокулюма готовится из расчета 5–10% от массы абсолютно сухого субстрата.

Инокулюм мицелиальной культуры гриба вносится в подготовленный и охлажденный до температуры ферментации (28–32°C) субстрат и тщательно перемешивается. Влажность субстрата должна составлять 50–70%.

Подготовленный субстрат подвергается твердофазной ферментации в ферментаторе непрерывного действия описанной конструкции, где осуществляется процесс его биоконверсии и обогащение белком.

Ферментация проводится при температуре 28–32°C, относительной влажности воздуха 95–99%, подаваемого на аэрацию в количестве 3000–5000 м<sup>3</sup>/ч на 1 т субстрата и продолжительности 5–7 сут.

Полученный продукт в натуральном виде (влажностью 65–70%) может быть использован в течение 1–2 сут.

При необходимости хранения продукта на протяжении длительного времени возможны его термообработка (сушка) или консервирование добавлением консервантов в количестве около 1% от массы продукта.

Для получения сухого белоксодержащего продукта влажностью 10–12% осуществляется

его высушивание в сушилке (например, барабанной) с использованием в качестве сушильного агента горячего воздуха. Процесс сушки осуществляется при температуре 45–50°C. Рекомендуется вначале проводить кратковременную пастеризацию при 100°C с дальнейшим высушиванием при указанных температурах.

В литературе не обнаружена информация о затратах тепловой и электрической энергии на процесс прямой биоконверсии растительного сырья методом ТФФ с целью обогащения белком. Однако существенное сокращение числа энергоемких операций этой технологии по сравнению с получением кормовых дрожжей биохимической переработкой гидролизатов и снижение затрат тепла на сушку продукта влажностью 50–70%, в отличие от высушивания дрожжевой суспензии, содержащей максимум 22–25%, свидетельствуют о том, что технология прямой биоконверсии растительного сырья (несмотря на дополнительные энергозатраты на его предварительную подготовку) является более энергосберегающей.

В настоящее время совершенствование способов прямой биоконверсии растительного сырья в белок осуществляется путем применения более эффективных культур-продуцентов белка, совершенствования технологии и оборудования для получения белоксодержащих кормовых добавок [8–10].

**Заключение.** Сравнение способов получения белоксодержащих кормовых добавок показало возможность и целесообразность осуществления процесса биоконверсии растительного сырья методом твердофазной ферментации. Предложены конструкция ферментатора и технологический процесс прямой биоконверсии полисахаридов растительного сырья микромицетами для его обогащения белком.

### Список литературы

1. Виестур У. Э., Шмите И. А., Жилевич А. В. Биотехнология: Биотехнологические аспекты, технология, аппаратура. Рига: Зинатне. 1987. 263 с.
2. Лобанок А. Г., Бабицкая В. Г., Богдановская Ж. Б. Микробиологический синтез белка на целлюлозе. Минск: Наука и техника, 1976. 261 с.
3. Холькин Ю. И. Технология гидролизных производств. М.: Лесная пром-сть, 1989. 496 с.
4. Головлев Е. А., Головлева Л. А. Твердофазная ферментация растительного сырья // Микробиология и биохимия разложения растительных материалов. М.: Наука, 1988. С. 301–333.
5. Смирнов К. А., Алашкевич Ю. Д., Решетова Н. С. Особенности твердофазной ферментации // Химия растительного сырья. 2009. № 3. С. 161–164.
6. Остроух О. В., Цедрик Т. П., Болтовский В. С. Обогащение белком лигноцеллюлозных субстратов в процессе прямой биоконверсии микроорганизмами // Вес. Нац. акад. наук Беларусі. Сер. хім. навук. 2002. № 2. С. 94–98.
7. Аппарат для твердофазной ферментации: пат. 16946 Респ. Беларусь. МПК С12 М 1/100, С12 М 1/04 / В. Н. Павлечко, В. С. Болтовский № а 20110199; заявл. 17.02.11; опубл. 30.04.13 // Афіцыйны бюл. / Нац. цэнтр інтэлектуал. уласнасці. 2013.
8. Дедков В. Н. Разработка биотехнологии кормового белка из растительного сырья: дис. ... канд. техн. наук: 03.01.06. Воронеж, 2014. 146 л.

9. Макарова Е. И., Будаева В. В. Биоконверсия непищевого целлюлозосодержащего сырья. Ч. 2 (обзор) // Известия ВУЗов. Прикладная химия и биотехнология. 2016. Т. 6, № 3. С. 26–35.
10. Болотникова О. И., Михайлова Н. П., Гинак А. И. Кислотный ферментативный гидролиз непищевых источников растительной биомассы: перспективы промышленной реализации // Известия СПбГТИ(ТУ). Сер. I, Химия и химическая технология. Органический синтез и биотехнология. 2017. № 39. С. 89–95.

### References

1. Viestur U. E., Shmite I. A., Zhilevich A. V. *Biotehnologiya: Biotehnologicheskiye aspekty, tekhnologiya, apparatura* [Biotechnology: Biotechnological aspects, technology, equipment]. Riga, Zinatne Publ., 1987. 263 p.
2. Lobanok A. G., Babitskaya V. G., Bogdanovskaya Zh. B. *Mikrobiologicheskiy sintez belka na tsellyuloze* [Microbiological protein synthesis on cellulose]. Minsk, Nauka i tekhnika Publ., 1976. 261 p.
3. Khol'kin Yu. I. *Tekhnologiya gidroliznykh proizvodstv* [Hydrolysis Production Technology]. Moscow, Lesnaya promyshlennost' Pybl., 1989. 496 p.
4. Golovlev E. A., Golovleva L. A. Solid-phase fermentation of plant materials. *Mikrobiologiya i biokhimiya razlozheniya rastitel'nykh materialov* [Microbiology and biochemistry of decomposition of plant materials]. Moscow, Nauka Publ., 1988, pp. 301–333.
5. Smirnov K. A., Alashkevich Yu. D., Reshetova N. S. Features of solid phase fermentation. *Khimiya rastitel'nogo syr'ya* [Chemistry of Plant Raw Materials], 2009, no. 3, pp. 161–164 (In Russian).
6. Ostroukh O. V., Tsedrik T. P., Boltovskiy V. S. Protein enrichment of lignocellulosic substrates during direct bioconversion with microorganisms. *Vesti Natsional'noy akademii nauk Belarusi. Seriya khimicheskikh nauk* [News of the National Academy of Sciences of Belarus. Series of Chemical Sciences], 2002, no. 2, pp. 94–98.
7. Pavlechko V. N., Boltovskiy V. S. *Apparat dlya tverdofaznoy fermentatsii* [Solid phase fermentation apparatus]. Patent BY, no. a 20110199, 2013.
8. Dedkov V. N. *Razrabotka biotehnologii kormovogo belka iz rastitel'nogo syr'ya. Diss. kand. tekhn. nauk* [Development of biotechnology feed protein from plant materials. Cand. diss.]. Voronezh, 2014. 146 c.
9. Makarova E. I., Budaeva V. V. Bioconversion of non-food cellulose-containing raw materials. Part 2 (review). *Izvestiya VUZov. Prikladnaya khimiya i biotehnologiya* [University News. Applied Chemistry and Biotechnology], 2016, vol. 6, no. 3, pp. 26–35 (In Russian).
10. Bolotnikova O. I., Mikhaylova N. P., Ginak A. I. Acidic enzymatic hydrolysis of non-food sources of plant biomass: prospects for industrial implementation. *Izvestiya SPbGTI(TU). Ser. I, Khimiya i khimicheskaya tekhnologiya. Organicheskiy sintez i biotehnologiya* [The Bulletin of SPbSTI (TU)], series I, Chemistry and chemical technology. Organic synthesis and biotechnology], 2017, no 39, pp. 89–95 (In Russian).

### Информация об авторе

**Болтовский Валерий Станиславович** – доктор технических наук, доцент, профессор кафедры химической переработки древесины. Белорусский государственный технологический университет (220006, г. Минск, ул. Свердлова, 13а, Республика Беларусь). E-mail: v-boltovsky@rambler.ru

### Information about the author

**Boltovskiy Valeriy Stanislavovich** – DSc (Engineering), Associate Professor, Professor, the Department of Chemical Processing of Wood. Belarusian State Technological University (13a, Sverdlova str., 220006, Minsk, Republic of Belarus). E-mail: v-boltovsky@rambler.ru

Поступила 30.03.2020