

Занятие семинарского типа № 7

ТЕМА ЗАНЯТИЯ: Биотехнология белковых препаратов как сфера производства

УЧЕБНЫЙ МАТЕРИАЛ

1. Общая характеристика белков

Структура белка. Белки или протеины (в переводе с греческого означает «первые» или «важнейшие»), количественно преобладают над всеми другими макромолекулами, присутствующими в живой клетке, и составляют более половины сухого веса большинства организмов.

Белки служат «инструментами», посредством которых генетическая информация получает свое реальное воплощение. В соответствии с тем, что в клеточном ядре содержатся тысячи генов, каждый из которых определяет какой-то один характерный признак живого организма, в клетке существуют тысячи разновидностей белков, каждый из которых реализует специфическую функцию, определяемую соответствующим геном.

В этой связи, белки – это не только наиболее многочисленные, но и исключительно разнообразные по своим функциям макромолекулы.

Молекулы белков представляют собой линейные полимеры, состоящие из 22 основных L- α -аминокислот (мономеров) и, в некоторых случаях, из модифицированных основных аминокислот (модификации происходят после биосинтеза белка на рибосоме). Для обозначения аминокислот в научной литературе используются одно- или трёхбуквенные сокращения. При образовании белка в результате взаимодействия α -аминогруппы ($-\text{NH}_2$) одной аминокислоты с α -карбоксильной группой ($-\text{COOH}$) другой аминокислоты образуются пептидные связи. Концы белка называют С- и N- концом (в зависимости от того, какая из групп концевой аминокислоты свободна: $-\text{COOH}$ или $-\text{NH}_2$, соответственно).

При биосинтезе белка на рибосоме, новые аминокислоты присоединяются к С-концу, поэтому название пептида или белка дается путем перечисления аминокислотных остатков начиная с N-конца. Белки длиной от 2 до 100 аминокислотных остатков часто называют *пептидами*, при большей степени полимеризации – *протеинами*, хотя такая градация весьма условна. Последовательность аминокислот в белке соответствует информации, содержащейся в гене данного белка. Данная информация представлена в виде последовательности нуклеотидов, причем одной аминокислоте соответствует одна или несколько последовательностей из трех нуклеотидов – триплетов или кодонов. При этом то, какая именно аминокислота соответствует данному кодону в мРНК определяется генетическим кодом, который может несколько отличаться у разных организмов.

Гомологичные белки (выполняющие одну функцию, предположительно имеющие общее эволюционного происхождения, например, гемоглобины) разных организмов имеют во многих местах цепи различные аминокислотные остатки, называемые переменными, в противоположность инвариантным, общим остаткам. По степени гомологии возможна оценка эволюционного расстояния между таксонами.

Выделяют простые белки (протеины) и сложные белки (протеиды). Простые белки содержат только аминокислоты, связанные в цепочку. Сложные белки имеют также неаминокислотные группы. Такие дополнительные группы в составе сложных белков называются «простетическими группами».

Многие белки эукариот, например, имеют полисахаридные цепи, которые помогают белку принимать нужную конформацию и придают дополнительную стабильность.

Дисульфидные мостики также играют роль как элементы необходимые при принятии белком правильной трехмерной формы, и являются главным компонентом сложных белков. Однако следует отметить, что в основном только эукариоты способны на биосинтез сложных белков (протеидов), так как прокариоты не имеют достаточно компартментализации для создания дополнительных изменений, присутствующих в сложных белках.

Кроме последовательности (первичной структуры), очень важна трехмерная структура белка, формирующаяся в процессе фолдинга (от англ. folding, т.е. сворачивание). Показано, что, несмотря на огромные размеры молекул, природные белки имеют лишь одну конформацию, утратившие структуру белки утрачивают свои свойства.

Выделяют четыре уровня структуры белка:

1. Первичная структура – последовательность аминокислотных остатков в полипептидной цепи.

2. Вторичная структура – локальное упорядочивание фрагмента полипептидной цепи, стабилизированное водородными связями и гидрофобными взаимодействиями.

При этом к наиболее распространенным типам вторичной структуры белков относятся α -спирали – плотные витки вокруг длинной оси молекулы, один виток составляют 4 аминокислотных остатка, спираль стабилизирована водородными связями между Н и О пептидных групп, отстоящих друг от друга на 4 звена. Спираль может быть построена исключительно из одного типа стереоизомеров аминокислот (L или D), хотя она может быть как левозакрученной, так и правозакрученной, в белках преобладает правозакрученная. Спираль нарушают электростатические взаимодействия глутаминовой кислоты, лизина, аргинина, близкорасположенные аспарагин, серин, треонин и лейцин могут стерически мешать образованию спирали, пролин вызывает изгиб цепи и также нарушает α -спирали.

Кроме того, к наиболее распространенным типам вторичной структуры белков относятся β -листы (складчатые слои) – несколько зигзагообразных полипептидных цепей, в которых водородные связи образуются между разными цепями, а не внутри одной, как имеет место в α -спирали. Данные цепи

обычно направлены N-концами в разные стороны (антипараллельная ориентация). Для образования β -листов важны небольшие размеры R-групп аминокислот, преобладают обычно глицин и аланин. неупорядоченные фрагменты.

3. Третичная структура – пространственное строение полипептидной цепи – взаимное расположение элементов вторичной структуры, стабилизированное взаимодействием между боковыми цепями аминокислотных остатков. В стабилизации третичной структуры принимают участие; ковалентные связи (между двумя цистеинами – дисульфидные мостики); ионные (электростатические) взаимодействия (между противоположно-заряженными аминокислотными остатками); водородные связи; гидрофобные взаимодействия.

4. Четверичная структура – субъединичная структура белка; взаимное расположение нескольких полипептидных цепей в составе единого белкового комплекса.

Кроме того, выделяют:

а) Трехмерную структуру белка – набор пространственных координат, составляющих белок атомов.

б) Субъединичную (доменную) структуру белка – последовательность участков белка, имеющих известную функцию или определенную трехмерную структуру.

Биосинтез белка. Такие важнейшие функции организма, как обмен веществ, развитие, рост, движение, осуществляются биохимическими реакциями, протекающими с участием белков. В этой связи, в клетках непрерывно синтезируются следующие виды белков: белки-ферменты, белки-гормоны, сократительные белки, защитные белки.

Первичная структура белка (порядок расположения аминокислот в белке) закодирована в молекулах ДНК. Каждый триплет (группа из трех соседних нуклеотидов) кодирует на нити ДНК одну определенную аминокислоту из двадцати. Последовательность триплетов на нити ДНК представляет собой генетический код. Зная последовательность триплетов на нити ДНК, то есть генетический код, можно установить последовательность соединения аминокислот в белке. К настоящему времени расшифрованы триплеты для всех двадцати аминокислот. Так, например, аминокислоту лизин кодирует на нити ДНК триплет ТТТ; аминокислоту триптофан кодирует триплет АЦЦ и т.д.

В одной молекуле ДНК могут быть закодированы несколько разных белков. Участок ДНК, на котором закодирован белок, называют геном. Участки ДНК отделяются друг от друга специальными триплетами, которые являются знаками препинания. Они означают начало и окончание процесса биосинтеза белка. Поскольку ДНК, в которой хранится генетическая информация о белке не принимает непосредственного участия в биосинтезе белка, содержится в ядре, а биосинтез белка происходит в цитоплазме на рибосомах, существует посредник – иРНК. иРНК считывает генетическую информацию о белке с участка ДНК и передает эту информацию с нити ДНК на рибосому. иРНК синтезируется на участке ДНК по принципу комплементарности. Напротив азотистого основания аденин (А) на нити ДНК располагается

урацил (У) на нити иРНК, напротив азотистого основания тимин (Т) на нити ДНК располагается аденин (А) на иРНК, напротив азотистого основания гуанин (Г) на нити ДНК располагается цитазин (Ц). Процесс считывания иРНК генетической информации о белке с участка ДНК называется транскрипцией. Данный процесс протекает как матричный синтез, так как одна из нитей ДНК является матрицей. Биосинтез белка происходит на рибосомах. На нити иРНК обычно располагается группа рибосом. Такую группу рибосом называют полисомой. Рибосомы продвигаются на нити иРНК от триплета к триpletу. Каждый триплет на нити иРНК кодирует одну определенную аминокислоту из двадцати. Транспортные РНК (тРНК) присоединяют определенные аминокислоты (каждая тРНК присоединяет одну определенную аминокислоту) и приносят их к рибосомам. При этом антикодон каждой тРНК должен быть комплементарен одному из триплетов (кодонов) на иРНК (антикодон АГЦ на тРНК должен быть комплементарен кодону УГЦ на нити иРНК).

рРНК вместе с белками – ферментами участвует в соединении аминокислот друг с другом, в результате на рибосомах синтезируется определенный белок (трансляция). Достигнув конечного участка на нити иРНК, рибосомы отделяются от нити РНК. Синтезированная молекула белка имеет первичную структуру. Затем она приобретает вторичную, третичную и четвертичную структуры.

В биосинтезе белка принимают участие большое количество ферментов. На биосинтез белка расходуется энергия АТФ. Затем белок поступает в каналы эндоплазматической сети, в котором транспортируется к определенным участкам клетки.

Применение белка одноклеточных организмов. По многим важным показателям биомасса микроорганизмов может обладать высокой питательной ценностью. В немалой степени ее питательная ценность определяется белками: у большинства видов они составляют значительную долю сухой массы клеток. На протяжении десятилетий активно обсуждаются и исследуются перспективы увеличения доли белка микроорганизмов в общем балансе белка, производимого в мире.

«Белок одноклеточных организмов» является относительно новым источником питательных веществ. Его производство началось в конце 60-х гг. XX в. Данный термин относится к белку, который получают при крупномасштабном выращивании микроорганизмов, таких как бактерии, водоросли, а дрожжи и др. Такой белок пригоден для употребления людьми и может быть использован в качестве корма для животных. Он служит полезным источником минеральных веществ, витаминов, жиров и углеводов. Теоретически это позволяет высвободить для нужд человека целый ряд белковых продуктов, таких как соевая мука и зерно, которые в настоящее время используются на корм животных. Крупномасштабное культивирование промышленных микроорганизмов и использование их биомассы – один из основных источников белка для человека и животных.

Сырьевая база микроорганизмов практически неисчерпаема, рост биомассы быстрый и интенсивный, состав белка одноклеточных организмов по-

стоянен, он, как правило, сбалансирован по аминокислотному составу. Из биомассы промышленных микроорганизмов можно получить широкую гамму продуктов различного назначения в хозяйственной деятельности человека. В настоящее время биомасса промышленных микроорганизмов широко используется для получения микробных препаратов (удобрений, стимуляторов и регуляторов роста растений) и микробных полимеров (ферментных белков, иммунобиологических препаратов, интерферонов, антибиотиков, гормонов и т.д.).

2. Биотехнология белковых препаратов

Преимущества микробиологического синтеза белка заключаются в следующем:

- ✓ микроорганизмы обладают высокой скоростью накопления биомассы (до 5000 раз большей, чем у животных или растений);
- ✓ микробные клетки способны накапливать значительное количество белка;
- ✓ при биотехнологическом получении белка отсутствует многостадийность за счет высокой специфичности;
- ✓ биосинтез белка осуществляется в мягких условиях;
- ✓ биотехнологический способ получения белка менее трудоемок по сравнению с процессом его органического синтеза.

В настоящее время биотехнологическое производство белка является самым крупномасштабным производством. Так, 2001 г. на 15 биотехнологических предприятиях произведено свыше 90 тыс. т. кормового микробиологического белка.

Белки являются обязательными компонентами клеток любого живого организма, выполняющими жизненно важные функции: каталитические, регуляторные, транспортные, биоэнергетические, структурные, запасные, защитные и др. Для образования клеток и тканей организма, а также для поддержания его жизненных функций должен осуществляться постоянный синтез структурных и других форм белков. В состав белков входят 20 аминокислот и два амида (аспарагин и глутамин).

Растения и большинство микроорганизмов способны синтезировать все входящие в их состав аминокислоты из простых веществ (углекислоты, воды и минеральных солей), тогда как в организме человека и животных некоторые аминокислоты не могут синтезироваться и должны поступать в готовом виде как компоненты продуктов питания. Такие аминокислоты называют незаменимыми. К ним относятся: валин, лейцин, изолейцин, лизин, метионин, треонин, триптофан, фенилаланин и др. Отсутствие в пище хотя бы одной незаменимой аминокислоты приводит к тяжелым заболеваниям человека, а недостаток их в кормах снижает продуктивность сельскохозяйственных животных. Главным источником незаменимых аминокислот для человека являются белки животного или растительного

происхождения, входящие в состав продуктов питания, а для сельскохозяйственных животных – главным образом, растительные белки.

Белковые вещества, поступающие с продуктами питания или кормом, под действием ферментов желудочного сока гидролизуются до аминокислот, которые затем используются для образования белковых молекул человеческого или животного организма.

Все незаменимые аминокислоты должны содержаться в белках продуктов питания в определенных соотношениях, отвечающих потребностям данного организма. В соответствии с нормами питания человек должен ежедневно получать с пищей 60–120 г полноценного белка.

Высокой интенсивностью биосинтеза белков характеризуются многие микроорганизмы, причем белки микробных клеток имеют повышенное содержание незаменимых аминокислот.

Микроорганизмы в качестве источника кормового белка имеют ряд преимуществ по сравнению с растительными и животными организмами. Так, они отличаются высоким (до 60% сухой массы) и устойчивым содержанием белков, тогда как в растениях концентрация белковых веществ значительно изменяется в зависимости от условий выращивания, климатических и погодных условий, типа почвы, агротехники и др. Наряду с белками в микробных клетках накапливаются и другие ценные в питательном отношении БАВ: легкоусвояемые углеводы, липиды с повышенным содержанием ненасыщенных кислот, витамины, макро- и микроэлементы.

При использовании микроорганизмов на ограниченной площади можно организовать промышленное производство и получать большое количество продукта в любое время года, причем микробные клетки способны синтезировать белки из отходов сельского хозяйства и промышленности, т.е. одновременно позволяют решать другую важную проблему – утилизации данных отходов в целях охраны окружающей среды. В качестве источников кормового белка наиболее часто используют различные виды дрожжей и бактерий, микроскопические грибы, одноклеточные водоросли и т.д.

3. Частная биотехнология белковых препаратов на различных субстратах

3.1. Получение кормовых дрожжей основе на различных питательных субстратах

Впервые дрожжи стали использовать в качестве источника белка для человека и животных в Германии во время первой мировой войны, когда была разработана промышленная технология культивирования пивных дрожжей (*Saccharomyces cerevisiae*), предназначенных для добавления в продукты питания. В нашей стране первый завод по производству кормовых дрожжей был пущен в 1935 г. Дрожжи выращивали на гидролизатах из отходов древесины и другого целлюлозосодержащего растительного сырья, образующих

при гидролизе легкоусвояемые для микроорганизмов формы углеводов. В настоящее время биотехнологической промышленностью России на основе гидролизатов растительного сырья производится значительный объем кормовых дрожжей для сельского хозяйства.

В качестве исходного сырья при такой технологии получения белка обычно используются отходы целлюлозной и деревообрабатывающей промышленности, солома, хлопковая шелуха, корзинки подсолнечника, стержни кукурузных початков, свекловичная меласса, картофельная мезга, виноградные выжимки, верховой малоразложившийся торф, барда спиртовых производств, отходы кондитерской и молочной промышленности.

Измельченное растительное сырье, содержащее большое количество клетчатки, гемицеллюлоз, пентазонов, подвергаются кислотному гидролизу при повышенном давлении и температуре. В результате 60–65% содержащихся в них полисахаридов гидролизуются до моносахаридов. Полученный гидролизат отделяют от лигнина, избыток кислоты, применяемой для гидролиза, нейтрализуют известковым молоком или аммиачной водой. После охлаждения и отстаивания в гидролизат добавляют минеральные соли, витамины и другие вещества, необходимые для жизнедеятельности микроорганизмов. Полученная таким путем питательная среда подается в ферментерный цех, в котором осуществляется выращивание дрожжей.

Типовая технологическая схема кислотного гидролиза растительного сырья включает следующие стадии: в гидролиз-аппарате осуществляется кислотный гидролиз растительного сырья, полученный гидролизат поступает на трехступенчатую испарительную установку, где производится его охлаждение, а после он поступает на конденсацию в теплообменник. Охлажденный гидролизат подвергается инверсии, которая происходит в инвенторе при 100 °С и атмосферном давлении. Данный процесс реализуется в течение 6–8 ч. Затем гидролизат поступает на нейтрализацию для освобождения от серной кислоты. Нейтрализация происходит непрерывно в двух или трех последовательно соединенных нейтрализаторах с применением известкового молока или аммиачной воды. После нейтрализат поступает на осветление, которое осуществляется в отстойниках (при этом температура снижается до 40–25 °С). Окончательное охлаждение нейтрализата осуществляют в вакуум-охлаждающих установках и теплообменниках, в результате получают охлажденное нейтрализованное сусло.

Таким образом, основными стадиями приготовления питательной среды с целью получения кормовых дрожжей являются: гидролиз, инверсия, нейтрализация, отстаивание и охлаждение. Иногда нейтрализованный гидролизат подвергают продувке воздухом для отделения летучих примесей.

Для культивирования на гидролизатах растительных отходов наиболее эффективны дрожжи родов *Candida*, *Torulopsis*, *Saccharomyces*, способные использовать в качестве источника углерода гексозы, пентозы и органические кислоты. При оптимальных условиях из 1 т отходов хвойной древесины можно получить 200 кг кормовых дрожжей.

Процесс культивирования дрожжей осуществляется в нестерильных условиях. Для получения кормовых дрожжей применяется технология их глубинного культивирования, при которой обеспечивается режим постоянного перемешивания суспензии микробных клеток в жидкой питательной среде и оптимальные условия аэрации. Основные параметры культивирования дрожжей следующие: концентрация источников углерода – 7,0 %, температура – 33–35 °С, значение рН среды – 4,0–4,2, конечная концентрация биомассы – 43–54 г/л абсолютно сухого вещества. В целях поддержания заданного температурного режима в конструкции ферментера предусматривается система отвода избыточного тепла. Рабочий цикл выращивания культуры дрожжей длится около 20 ч. По окончании рабочего цикла культуральная жидкость вместе с суспендированными в ней клетками дрожжей выводится из ферментера, а в него вновь подается питательный субстрат и культура дрожжевых клеток для выращивания.

Суспензия дрожжевых клеток, выведенная из ферментера, подается на флотационную установку, с помощью которой производится отделение биомассы дрожжей от культуральной жидкости. В процессе флотации происходит вспенивание суспензии, при этом дрожжевые клетки всплывают на поверхность вместе с пеной, которая отделяется от жидкой фазы декантацией. После отстаивания дрожжевая масса концентрируется с помощью сепаратора. Для достижения лучшей переваримости дрожжей в организме животных проводится их специальная обработка (механическая, ультразвуковая, термическая, ферментативная), обеспечивающая разрушение клеточных оболочек. Затем дрожжевая масса упаривается до необходимой концентрации и высушивается (влажность готового продукта не должна превышать 8–10%).

В сухой дрожжевой массе содержится: 40–60% сырого белка, 25–30% усвояемых углеводов, 3–5 % сырого жира, 6–7% клетчатки и зольных веществ, большое количество витаминов (до 50 мг%). Посредством обработки дрожжей УФ лучами проводится их обогащение витамином D₂, который образуется из содержащегося в них эргостерина. Для улучшения физических свойств готового продукта кормовые дрожжи выпускают в гранулированном виде.

На основе ферментации гидролизатов растительного сырья наряду с производством кормовых дрожжей получают также этиловый спирт. В этом случае особенность технологии заключается в том, что вначале проводится спиртовое брожение, в результате которого происходит утилизация гексоз, содержащихся в гидролизате. После отгонки спирта остается неиспользованный субстрат – барда, содержащая в основном пентозы. Эту послеспиртовую барду используют как питательную среду для выращивания кормовых дрожжей. Таким образом, из гидролизатов растительных отходов одновременно могут быть получены два вида ценной продукции.

Технология получения кормовых дрожжей на основе спиртовой барды усовершенствована в ФГУП «Госниисинтезбелок». В основу разработанной биотехнологии переработки спиртовой барды положен способ непрерывной аэробной ферментации с добавлением в культуральную жидкость

углеродсодержащего источника – зерносырья, что позволяет увеличить выход белковой биомассы и сделать производство рентабельным. В качестве продуцента белка используется устойчивая ассоциация подобранных микроорганизмов: *Saccharomycopsis fibuligera* и *Rhodococcus erythropolis*. Оптимизированный режим ферментации со скоростью потока $0,12 \text{ ч}^{-1}$ и уровнем аэрации среды $0,7 \text{ м}^3/\text{м}^3 \cdot \text{мин}$. обеспечивает получение готового продукта – кормовой белковой добавки, содержащей не менее 50–52% протеина, с выходом от исходного сырья (в пересчете на сухие вещества) – 85–90%. Экологически безопасная биотехнологическая установка для промышленной реализации данной технологии включает следующие стадии: ферментацию, концентрирование и сушку готового продукта. Она обеспечивает круглогодичную переработку до 100 тыс. т. в год спиртовой барды, получение белковой кормовой добавки (порошок или гранулы), содержащей полный набор необходимых аминокислот, витамины группы В, микроэлементы, служащей для обогащения протеином рационов сельскохозяйственных животных и птиц, и рентабельность производства при удельных энергетических затратах на технологию 0,45–0,5 тыс. кВт·ч/т и сроке окупаемости установки 1,7–2 года.

В России и некоторых нефтеперерабатывающих странах разработаны технологии получения кормовых дрожжей из *n*-парафинов нефти. Дрожжевые клетки могут использовать для своего роста в качестве источников углерода неразветвленные углеводороды с числом углеродных атомов от 10 до 30, представляющие собой жидкие фракции с температурами кипения 200–320 °С, выделяемые из нефти путем перегонки. Очищенные фракции углеводородов нефти, используемые для выращивания дрожжей, могут быть получены 3 методами: низкотемпературной кристаллизации, карбамидной депарафинизации и адсорбции на молекулярных ситах. В соответствии с первым методом проводится кристаллизация высококипящих фракций после растворения их в смеси органических растворителей при постоянном охлаждении. Затем очищенные кристаллизацией продукты используют для приготовления питательной среды для культивирования микроорганизмов. Второй метод основан на способности *n*-парафинов нефти образовывать прочный комплекс с молекулами карбамида, который после отделения от остальных фракций при нагревании легко разлагается, в результате с помощью перегонки можно получить очищенную фракцию *n*-парафинов. Третьим методом производится адсорбция нужных фракций углеводородов нефти на молекулярных ситах (цеолитах), а после проводят их десорбцию, и таким путем удается выделить фракции высокой степени чистоты.

В других странах описываемая технология производства дрожжей не получила широкого развития из-за высоких мировых цен на нефть. В нашей стране первый завод по производству кормовых дрожжей из жидких парафинов нефти был пущен в 1971 г.

В питательную среду, приготовленную на основе *n*-парафинов нефти, добавляют макро- и микроэлементы, необходимые витамины и аминокислоты, аммиачную воду (в качестве источника азота). В процессе культивирова-

ния дрожжей в ферментере поддерживается оптимальный температурный режим и режим аэрации. Наиболее эффективны для выращивания на *n*-парафинах нефти отселектированные штаммы дрожжей *Candida guilliermondii*. Выделение и сушка дрожжевой массы проводится примерно по такой же технологии, как и в гидролизном производстве. Высушенная дрожжевая масса гранулируется и используется как белково-витаминный концентрат (БВК) для кормления сельскохозяйственных животных. БВК содержит до 50–60% белковых веществ, а содержание остаточных углеводов допускается не более 0,1%.

В целях более полного использования сырья и снижения в товарном продукте содержания остаточных углеводов разработаны усовершенствованные технологии получения БВК, включающие двухступенчатую ферментацию и последующую экстракцию из дрожжей остаточных углеводов бензином. При этом содержание сырого белка в дрожжевой массе может быть повышено до 58–65% (в расчете на сухую массу), а содержание остаточных углеводов снижено до 0,05%.

Хорошим субстратом для выращивания кормовых дрожжей является молочная сыворотка (производственный отход при переработке молока). В 1 т молочной сыворотки в среднем содержится 10 кг полноценного белка и 50 кг лактозы, который легко утилизируется микроорганизмами. Для выделения из нее белков разработана эффективная технология с применением метода ультрафильтрации низкомолекулярных веществ через мембраны. Получаемые таким способом белки используются для приготовления сухого обезжиренного молока или в качестве пищевой белковой добавки. Остающиеся после отделения белков жидкие отходы (пермеат), содержащие лактозу, могут быть переработаны в обогащенные белками кормовые продукты путем культивирования дрожжей. Часто дрожжеванию подвергается молочная сыворотка без предварительного выделения из нее белков, при этом выращиваются специальные расы кормовых дрожжей из рода *Torulopsis*. На основе дрожжевания молочной сыворотки производится 3 вида кормовых белковых продуктов: заменитель цельного молока для кормления молодняка сельскохозяйственных животных («БИО-ЗЦМ»), жидкий белковый продукт («Промикс») с содержанием белков в 2,5–3 раза выше, чем в исходной молочной сыворотке и сухой обогащенный дрожжевыми белками продукт («Провилакт»), применяемый как заменитель сухого обезжиренного молока.

Кроме того, во ФГУП Госниисинтезбелок разработан биотехнологический способ получения белкового продукта при культивировании смешанной культуры микроорганизмов на молочной сыворотке. Проведенное исследование было направлено на разработку промышленной технологии переработки многотоннажных отходов молокозаводов и получение питательного белкового продукта. Известно, что непосредственное использование молочной сыворотки в пищевой и комбикормовой промышленности нецелесообразно из-за неблагоприятного сочетания в ней углеводов, белков и минеральных веществ. Повышение питательных свойств молочной сыворотки возможно путем увеличения содержания в ней белка и снижения содержания углево-

дов. Для решения данной задачи предложено использование симбиотического консорциума бактерий *Lactobacillus casei* и *Propionibacterium freudenreichii*. При аэробном выращивании биомассы используют питательную среду, состоящую из молочной сыворотки и фонового количества микроэлементов. В отдельных опытах выращивание проводят на предварительно сконцентрированной молочной сыворотке (до 16–22% сухих веществ). В ходе проводившегося исследования изучены кривые роста консорциума бактерий при 2 способах засева культур (одновременный и последовательный засев), а также определен оптимальный режим подачи посевной культуры, построена математическая модель процесса, позволяющая по кинетическим и стехиометрическим коэффициентам рассчитать режим подачи кислорода и время накопления биомассы. Получаемая биомасса после ферментации подвергается автолизу и сушке. Готовый белковый продукт содержит 24–28% протеина, в том числе аминокислоты (лизин – 5,5–6%), лейцин – 7–8 %, валин – 37–38%, валин – 1,2–1,5%, пролин – 5,2–5,5% и др.), витамины групп В, РР, А и микроэлементы. Кроме того, исследованы режимы обработки биомассы для повышения содержания белка в продукте до 60–70%. Проведено опытное испытание по применению полученного биопродукта в качестве белковой добавки при производстве колбасных и мучных изделий, а также в составе корма для кошек и собак. На основе разработанной биотехнологии планируется создание опытной установки производительностью 50 т/год готового продукта. Предложенная технология защищена патентом РФ.

Кроме углеводов и углеводородов в качестве источников углерода дрожжевые клетки могут также использовать низшие спирты – метанол и этанол, которые обычно получают из природного газа или растительных отходов. Биомасса, полученная после культивирования дрожжей на спиртах, отличается высоким содержанием белков (56–62% от сухой массы). При этом содержание в ней вредных примесей значительно ниже по сравнению с кормовыми дрожжами, выращенными на *n*-парафинах нефти.

Как показывают опыты по изучению питательных свойств кормовых дрожжей, они достаточно хорошо перевариваются в организме животных (перевариваемость белков составляет 80–90%), по сумме незаменимых аминокислот близки к эталону ФАО, а по содержанию в белках лизина, треонина, валина и лейцина существенно превышают эталон ФАО (табл. 1). Вместе с тем белки дрожжей частично не сбалансированы по метионину и в них содержится мало других серосодержащих аминокислот.

Кормовые дрожжи по сравнению с растительными источниками белков имеют повышенное содержание нуклеиновых кислот (4–6 % от сухой массы), которые в такой концентрации оказывают вредное воздействие на организм животных. В результате их гидролиза образуется большое количество пуриновых оснований, превращающихся в соли мочевой кислоты, которые, откладываясь в организме, могут стать причиной мочекаменной болезни, остеохондроза и других заболеваний. Вследствие этого оптимальная норма добавления дрожжевой массы в корм сельскохозяйственных животных обычно

составляет не более 5–10% от сухого вещества или 10–20% дрожжевого белка от общего количества белка в кормовом рационе.

Кормовые дрожжи, культивируемые на питательной среде из *n*-парафинов нефти, могут содержать многие вредные примеси (производные бензола, D-аминокислоты, аномальные липиды, различные токсины и канцерогенные вещества), поэтому их подвергают специальной очистке (экстракция бензином).

Таблица 1

Содержание незаменимых аминокислот в белках некоторых микроорганизмов (г на 100 г белка)

Аминокислота	Дрожжи	Бактерии	Водоросли	Грибы	Соевый шрот	Эталон ФАО
Лизин	6–8	6–7	5–10	3–7	6,4	4,2
Триптофан	1–1,5	1–1,4	0,3–2,1	1,4–2	1,4	1,4
Метионин	1–3	2–3	1,4–2,5	2–3	1,3	2,9
Треонин	4–6	4–5	3–6	3–6	4,0	2,8
Валин	5–7	4–6	5–7	5–7	5,3	4,2
Лейцин	6–9	5–11	6–10	6–9	7,7	4,8
Изолейцин	4–6	5–7	3,5–7	3–6	5,3	4,2
Фенилаланин	3–5	3–4	3–5	3–6	5,0	2,8

При организации производства кормовых дрожжей во избежание загрязнения окружающей среды возникают проблемы очистки газообразных и жидких отходов, в связи с чем ведется работа по созданию экологически чистых безотходных технологий с замкнутым циклом водопользования.

Кроме совершенствования производственной технологии, важное значение имеет создание высокопродуктивных штаммов дрожжей, способных накапливать большое количество белка, быстро наращивать биомассу и эффективно использовать субстрат для жизнедеятельности. С целью создания новых штаммов микроорганизмов применяют как традиционные методы селекции, так и генно-инженерные технологии.

Наряду с использованием дрожжевых белков в качестве кормовой добавки при балансировании рационов сельскохозяйственных животных ставится задача сделать эти белки пригодными для питания человека. Уже в 1930–1940 гг. в некоторых странах были разработаны технологии культивирования пивных и других пищевых дрожжей (*Saccharomyces cerevisiae*, *Candida arborea*, *Candida utilis*), которые использовались как белковые добавки к разным пищевым продуктам.

3.2. Получение белковых концентратов из бактерий

Наряду с получением кормовых дрожжей, важное значение для кормопроизводства имеют также бактериальные белковые концентраты с содержа-

нием сырого белка 60–80% от сухой массы. Известно более 30 видов бактерий, которые могут быть использованы в качестве источников полноценного кормового белка. Бактерии способны наращивать биомассу в несколько раз быстрее дрожжевых клеток. Кроме того, в белке бактерий содержится значительно больше серусодержащих аминокислот, вследствие чего они имеют более высокую биологическую ценность по сравнению с белком дрожжей. Источником углерода для бактерий могут служить различные газообразные продукты (природный и попутный газы, газовый конденсат и др.), низшие спирты (метанол, этанол), водород.

При использовании в качестве сырья газообразных продуктов, основным компонентом которых является метан, питательную смесь под давлением подают в специальный ферментер струйного типа. В целях лучшей утилизации сырья микроорганизмами в таком ферментере предусматривается рециркуляция газовой смеси. Для обеспечения необходимой аэрации культуры бактерий производится продувка ферментера воздухом или кислородом. Чаще всего на газовых питательных средах выращивают бактерии рода *Methylococcus*, способные при оптимальных условиях утилизировать до 85–90% метана, подаваемого в ферментер. Все технологические линии, связанные с культивированием бактерий в газовой среде, требуют точного контроля за составом среды и оснащения производственных установок, герметизированным, взрывобезопасным оборудованием.

После окончания ферментации клетки бактерий осаждают и отделяют от питательной среды на сепараторе. Затем полученную бактериальную массу подвергают механической или ультразвуковой обработке для разрушения клеточных оболочек, после чего высушивают и используют для приготовления кормовых белковых концентратов.

В связи с тем, что газовая среда из метана и воздуха взрывоопасна и для улучшения утилизации метана бактериями требует постоянной рециркуляции, производство кормового белка из газообразных продуктов является сложным и дорогостоящим. Более широкое применение находит технология выращивания бактериальной белковой массы на метаноле, который можно легко получить путем окисления метана. При культивировании на питательной среде, содержащей метанол, наиболее эффективны бактерии родов *Methylomonas*, *Pseudomonas*, *Methylophilus*. Эти бактерии выращивают в обычном ферментере с использованием жидкой питательной среды.

Широкомасштабное производство кормовых белков на основе метанола впервые было организовано в Англии. Концерном «ICI» выпускается кормовой белковый препарат с коммерческим названием «Прутин». В нашей стране также разработана технология получения бактериальной белковой массы из метанола, выпускаемой под коммерческим названием «Меприн», содержащей в своем составе до 70–74% от сухой массы белков, до 5% липидов, около 10% минеральных веществ, 10–13% нуклеиновых кислот. На основе культивирования бактерий рода *Acinetobacter* разрабатывается технология получения кормового белка из этанола («Эприн»), который может иметь и пищевое назначение.

Высокой интенсивностью синтеза белков характеризуются водородо-кисляющие бактерии, способные накапливать в своих клетках до 80 % сырого белка в расчете на сухое вещество. Эти бактерии используют энергию окисления водорода для утилизации углекислоты, а некоторые штаммы и для усвоения атмосферного азота. Для культивирования водородокисляющих бактерий в составе газовой среды обычно содержится 70–80% водорода, 20–30% кислорода и 3–5% углекислоты. Высокую эффективность при выращивании на такой газовой среде имеют бактерии родов *Pseudomonas*, *Alcaligenes*, *Achromobacter*, *Corinebacterium* и др.

Обычно водород для производства белковой массы получают из воды путем ее электролитического или фотохимического разложения. Углекислота может быть использована из газообразных отходов каких-либо промышленных производств или из топочных газов, что одновременно решает проблему очистки газовой среды. Производство кормового препарата на основе водородокисляющих бактерий может быть также организовано вблизи химических предприятий, где в качестве побочного продукта образуется водород.

Обычно кормовой белок бактериального происхождения добавляют в комбикорма в количестве 2,5–7,5% от белка рациона. Основное препятствие, которое не позволяет его использовать в большей концентрации, – повышенное содержание нуклеиновых кислот (10–25%). Кроме того, в бактериальной массе наряду с полезными компонентами в значительном количестве синтезируются трудно усвояемые формы липидов. Кроме того, методы выделения и очистки бактериальных белковых препаратов являются сложными и дорогостоящими.

Кроме того, сырьем для получения белковых веществ может служить природный газ (CH_4). В данном случае в качестве продуцентов используют бактерии рода *Pseudobacterium*, *Mycobacterium*, *Bacillus*, *Staphylococcus*, *Metanomonas*. Пути усвоения природного газа микроорганизмами различны. Так, выделяют два пути ассимиляции природного газа бактериями:

- 1) гетеротрофный путь: окисление природного газа через спирт и альдегид;
- 2) автотрофный путь сводится к образованию углекислого газа и активного водорода.

Выращивание бактерий на метане отличается рядом особенностей: медленный рост микроорганизмов, низкая растворимость метана (0,02 г в 1 л культуральной жидкости), повышенная потребность клеток в кислороде. По сравнению с выращиванием бактерий на мелассе необходимо в 5 раз, на парафинах – в 2–3 раза больше кислорода. В технологии производства кормового белка на метане важно создать эффективное перемешивание.

При культивировании микроорганизмов рода *Metanomonas* в ферментере используют газовую среду, содержащую (%): кислород (8–11), метан (10–15), углекислый газ (5,0) и азот (69–77). Причем выращивание осуществляют при повышенном давлении (при этом в начале ферментации давление составляет 4 МПа, а в конце – 0,1 МПа). Температура культивирования состав-

ляет 30 °С. Выращивание осуществляют в течение 2 суток. В данном случае реализуется метод периодического культивирования, а конечная концентрация биомассы составляет 1 г в 1 л.

3.3. Получение кормовых белков из водорослей

В России и ряде других стран для производства кормового белка используются одноклеточные водоросли *Chlorella* и *Scenedesmus*, а также сине-зеленые водоросли рода *Spirulina*, способные синтезировать белки и другие органические вещества из углекислоты, воды и минеральных веществ за счет усвоения энергии солнечного света. Для их выращивания необходимо обеспечивать определенные режимы освещения и температуры, а также требуются большие объемы воды. Чаще всего в естественных условиях водоросли выращивают в южных регионах с использованием бассейнов открытого типа, однако разрабатываются технологии их культивирования в закрытой системе.

Водоросли хлорелла и сценедесмус требуют для своего выращивания нейтральной среды, их клетки имеют довольно плотную целлюлозную оболочку, вследствие чего хуже перевариваются в организме животных. Для лучшей их перевариваемости проводится разрушение целлюлозных оболочек посредством специальной обработки.

Клетки спирулины в 100 раз крупнее хлореллы, однако, они не имеют прочной целлюлозной оболочки, поэтому лучше перевариваются в организме животных. Выращивается спирулина в щелочной среде (рН 10–11), при естественных условиях в щелочных озерах.

По интенсивности накопления биомассы водоросли, хотя и уступают кормовым дрожжам и бактериям, значительно превосходят сельскохозяйственные растения. При их выращивании в культиваторах открытого типа с 1 га водной поверхности можно получать до 70 т сухой биомассы в год, тогда как при возделывании пшеницы – 3–4 т, риса – 5 т, сои – 6 т, кукурузы – 7 т.

Содержание белков в клетках хлореллы и сценедесмус составляет 45–55% в расчете на сухую массу, а в клетках спирулины достигает 60–65%. Белки водорослей хорошо сбалансированы по содержанию незаменимых аминокислот, в них недостаточно лишь содержание метионина. Наряду с высоким содержанием белковых веществ, в клетках водорослей довольно много синтезируется полиненасыщенных жирных кислот и провитамина А (до 150 мг%). Каротин в биомассе водорослей в 7–9 раз больше, чем в травяной муке из люцерны, отличающейся наиболее высоким содержанием этого провитамина среди кормовых трав. Содержание нуклеиновых кислот в одноклеточных водорослях значительно ниже (4–6%), чем у бактерий, однако несколько выше по сравнению с растительными источниками белка (1–2%).

Технология получения белковой массы из клеток водорослей включает выращивание промышленной культуры в культиваторах открытого или закрытого типа, отделение водорослей от массы воды, приготовление товарного продукта в виде суспензии, сухого порошка или пастообразной массы.

Процесс отделения клеток водорослей от массы воды является энергоемким, т.к. необходимо перерабатывать большие объемы жидкости.

Вначале отстаивают клеточную суспензию, затем клетки водорослей отделяют от воды путем декантации. Для ускорения осаждения клеток часто применяют химическую флокуляцию, вызывающую быструю коагуляцию частиц. После осаждения клеточной биомассы ее пропускают через сепаратор, в результате происходит концентрирование суспензии до необходимой концентрации. Если требуется получить пастообразный препарат, то полученную белковую массу высушивают. Для улучшения переваримости биомассы клеток хлореллы и сценедесмуса проводится их обработка с целью разрушения клеточных оболочек.

В нашей стране наиболее распространено выращивание хлореллы, которая применяется для кормления сельскохозяйственных животных в виде суспензии (1,5 г/л сухого вещества) или сухого порошка. Суточная норма суспензии хлореллы при кормлении молодняка крупного рогатого скота – 3–6 л, взрослых животных – 8–10 л. При добавлении в корм жвачных животных муки хлореллы допускается замена 50% растительного белка белком водорослей.

Важное значение имеет выращивание водорослей на стоках промышленных предприятий, тепловых электростанций, животноводческих комплексов, т.к. в этих случаях наряду с получением кормового белка одновременно решаются проблемы, связанные с защитой окружающей среды. Так, выращивание культуры сценедесмус или хлореллы на стоках животноводческих комплексов в течение 15 сут. позволяет почти полностью очистить их от органических веществ, исчезают неприятные запах и цвет. При культивировании водорослей на промышленных стоках или стоках тепловых станций используется отводимый с этих объектов избыток тепла, а также утилизируется углекислота, образуемая как побочный продукт технологических процессов в результате сжигания различных отходов.

Культиваторы открытого типа для выращивания водорослей имеются во многих странах. Крупнейшая фирма по выращиванию хлореллы «Хлорелла Сан Компани» находится в Японии. В Болгарии на водах термальных источников культивируются водоросли хлорелла и сценедесмус, причем болгарским ученым удалось получить штаммы хлореллы без целлюлозной оболочки, вследствие чего биомасса таких клеток хорошо переваривается в организме животных. В значительном количестве белковые концентраты из водоросли спируллины производятся в странах центральной Африки и в Мексике, в которых имеются щелочные озера. Крупнейшим производителем различной продукции из биомассы и белков спируллины является фирма «Соса Текскоко» (Мексика). В Италии разрабатывается технология выращивания клеток спируллины на морской воде и в культиваторах закрытого типа.

В связи с тем, что биомасса водорослей рода *Spirulina* легко переваривается ферментами желудочного сока и характеризуется высоким содержанием белков (до 70% сухой массы), хорошо сбалансированных по аминокислотно-

му составу, она в ряде стран используется для приготовления продуктов питания, главным образом кондитерских изделий, обогащенных белком.

Учитывая важное значение водорослей, вводимых в промышленную культуру, в качестве дополнительного источника полноценного белка для кормления сельскохозяйственных животных и питания людей, учеными разной специализации – селекционерами, генетиками, биохимиками – проводятся исследования по улучшению существующих промышленных штаммов одноклеточных водорослей и получению новых генотипов, которые должны сочетать в себе высокую интенсивность фотосинтеза, морозоустойчивость, хорошую перевариваемость, способность синтезировать большое количество белка лучшего качества (повышенное содержание незаменимых аминокислот) и полнее утилизировать субстрат. Важная роль в реализации таких исследований отводится методам генетической инженерии.

3.4. Получение белков из микроскопических грибов

Ценным источником белков, хорошо сбалансированных по аминокислотному составу, являются клетки мицелия многих микроскопических грибов. По своим питательным свойствам белки грибов приближаются к белкам сои и мяса, вследствие чего могут использоваться не только для приготовления кормовых концентратов, но и как добавка в пищу человека. Сырьем для промышленного выращивания микроскопических грибов обычно служат растительные отходы, содержащие клетчатку, гемицеллюлозы и лигнин. При этом одновременно решаются две важные задачи – получение белковой массы и утилизация отходов растениеводства, деревообрабатывающей и целлюлозно-бумажной промышленности, которые могут быть источниками загрязнения окружающей среды.

Важно найти активные штаммы микроорганизмов, способные утилизировать углерод лигнина, обладающего высокой устойчивостью к разложению микрофлорой. В природе лигнин разлагается лишь грибами коричневой и белой гнили из родов *Stropharia*, *Pleurotus*, *Abortiporus*, *Coriolus*, *Stereum* и др. В настоящее время в процессе исследований отобраны атоксичные быстрорастущие штаммы мезо- и термофильных грибов из родов *Penicillium*, *Aspergillus*, *Fusarium*, *Trichoderma* для промышленного культивирования. Клетки мицелия этих грибов имеют тонкую клеточную оболочку, вследствие чего очень хорошо перевариваются в желудочно-кишечном тракте животных. Они содержат в своем составе комплекс ароматических веществ, улучшающих их вкусовые качества, богаты витаминами и легкоусвояемыми липидами. По сравнению с дрожжевыми, белки микроскопических грибов отличаются повышенным содержанием серосодержащих аминокислот и лучшей усвояемостью. Концентрация нуклеиновых кислот в грибном мицелии (1–4% от сухой массы) почти такая же, как в тканях растительного организма, вместе с тем в биомассе грибов меньше, чем в дрожжах, синтезируется белков (20–60% от сухой массы) и у них относительно медленней происходит рост биомассы (удвоение биомассы через 4–16 ч, тогда как у дрожжей через 2–3 ч).

Низшие мицелиальные грибы, культивируемые на целлюлозо- и лигнинсодержащих растительных отходах, вследствие их способности синтезировать комплекс гидролитических ферментов разлагают целлюлозу и лигнин до простых веществ, из которых образуются аминокислоты и белки. В целях ускорения роста грибов проводится предварительная обработка сырья, повышающая доступность его компонентов для утилизации микроорганизмами. Чаще всего применяют кислотно-щелочный способ обработки целлюлозо- и лигнинсодержащих отходов, отпаривание под давлением, обработка аммиаком и каустической содой. После такой обработки происходит полное или частичное разложение трудногидролизуемых полисахаридов и лигнина, что обеспечивает ускоренный рост грибной массы и сокращение сроков промышленного культивирования грибов (до 7–8 сут.).

В зависимости от способа подготовки растительного сырья для культивирования микроскопических грибов применяют и соответствующие технологии их выращивания. Для культивирования грибов на твердой питательной среде разработан метод твердофазной ферментации, включающий: измельчение и обработку растительного сырья парами воды и аммиака, обогащение сырья минеральными веществами, посев и выращивание мицелия грибов в заданном режиме аэрации и поддержания оптимальной температуры. Однако при такой технологии культивирования грибов коэффициент использования сырья не высок, что предопределяет и сравнительно невысокий уровень содержания белка в выращиваемой грибной массе (20–30% от сухой массы). Так, прямое культивирование низших мицелиальных грибов на соломе и других отходах растениеводства обеспечивает включение углерода из этих источников в органическое вещество грибного мицелия на 17–25%. Более высокий коэффициент использования сырья обычно достигается при выращивании грибов на гидролизатах растительных отходов и жидких отходах деревообрабатывающей и целлюлозно-бумажной промышленности. С этой целью применяют метод глубинного культивирования, как при выращивании кормовых дрожжей. Содержание белков в грибной массе, выращенной на жидкой питательной среде, может достигать 50–60% от сухой массы. В целях более полного использования также практикуется совместное культивирование грибов и бактерий. Наряду с использованием растительных отходов, разработаны технологии по переработке в грибной белок торфа, навоза и экскрементов животных.

Хорошая перевариваемость грибной белковой массы в организме животных, а также низкий уровень содержания в ней нуклеиновых кислот позволяют ее использовать в качестве кормовой добавки в значительно большей концентрации, чем кормовые дрожжи. Обычно при кормлении молодняка животных допускается введение в кормовые рационы грибного белка в пределах 15–20 % от белка корма, а при кормлении взрослых животных возможна замена в корме 50 % растительного белка на грибной.

4. Особенности получения пищевого белка

4.1. Общая характеристика пищевого белка

Белок является важнейшим жизненно необходимым компонентом питания, реализуя в пищевых продуктах две основные функции.

Способность белка выполнять пищевую или питательную функцию определяют его биологическую ценность.

Вторая функция белка – структурная, обеспечивающая необходимую структуру, а также комплекс реологических и других физико-химических свойств перерабатываемых пищевых систем и готовых пищевых продуктов. Тем самым задаются консистенция, технологические и другие качества пищевых продуктов. Способность белка выполнять структурные функции, обеспечивая желаемые потребительские качества пищевого продукта, характеризуется широким комплексом физико-химических характеристик, объединяемых термином «функциональные свойства белка».

Выполняя пищевую функцию, белок обеспечивает адекватность пищевого продукта физиологическим потребностям организма, в то время как выполнение им структурных функций призвано обеспечить потребительские качества пищевого продукта, его адекватность социально-культурным потребностям людей.

Значимо, что реальный спрос на пищевые продукты обусловлен, прежде всего, экономическими и социально-культурными факторами, поэтому он, в большой мере, определяется стоимостью и потребительскими (товароведческими) характеристиками пищевого продукта, а не его биологической или пищевой ценностью, о которой потребитель обычно мало осведомлен.

Потребительские характеристики продукта обеспечивают его покупку и потребление, что означает реализацию его биологической ценности. В этой связи, первостепенное значение имеют структурные функции белка, обеспечивающие потребительские качества пищевого продукта и определяющие возможность реализации пищевой функции белка.

Биологическая ценность белка, не потребленного человеком, равна нулю. Она возрастает приблизительно до 10% от максимально реализуемой в случае скармливания животному белка из новых нетрадиционных источников в соответствии с эффективностью конверсии белка кормов в белки мяса. Биологическая ценность нетрадиционного или недостаточно утилизируемого белка может быть наиболее полно реализована при его переработке в пищевые продукты. Следовательно, наиболее рационально применение пищевого белка для питания при его переработке в пищевые продукты, недорогие и привлекательные для потребителя. В этой связи, ведущее значение структурной функции белка и проблемы получения белка с необходимыми функциональными свойствами, обеспечивающими как экономичность его переработки в пищевые продукты, так и их потребительские свойства, наряду с функциональными свойствами и биологической ценностью пищевого белка, важным критерием его качества является стоимость. Она определяет возможность

получения на основе белка достаточно недорогих пищевых продуктов массового потребления. Помимо стоимости пищевого белка существенное значение имеет и стоимость его переработки в продукты питания, т.е. придание ему необходимых потребительских качеств. Стоимость переработки белка в значительной мере зависит от его функциональных свойств, которые, в свою очередь, влияют на выбор технологии его переработки.

В большинстве случаев возрастание степени очистки белка при его выделении ведет к повышению его функциональных свойств, стоимости, а зачастую, и к снижению биологической ценности. При этом повышение стоимости белка и снижение его биологической ценности компенсируются тем, что улучшенные функциональные свойства позволяют перерабатывать данный белок с меньшими затратами в более широкий ассортимент пищевых продуктов различного состава и пищевой ценности, в том числе и в наиболее дорогостоящие комбинированные мясные и молочные изделия и их аналоги. Кроме того, белки с более высокой степенью очистки обычно легче и дольше сохраняют свои качества, отличаются более высокой стандартностью, что способствует снижению стоимости их переработки в продукты питания. В этой связи, среди ряда показателей качества белка преобладающее значение принадлежит функциональным свойствам. При этом во всех случаях сохраняется значение биологической ценности и стоимости белка.

4.2. Биотехнология пищевого белка

Основные принципы получения пищевого белка те же, что и получения кормового белка. Однако при получении пищевого белка ограничивается круг используемых субстратов, и предъявляются более жесткие требования к составу биомассы и конечного продукта. Так, в пищевой биомассе должно содержаться не менее 80% белка, 2% нуклеиновых кислот и 1% липидов.

На одного человека в сутки должно приходиться 10–20 г сухой биомассы.

При переработке в пищевой белок биомассу продуцента тщательно очищают. С этой целью клеточные оболочки дрожжевых или бактериальных клеток разрушают с помощью механической, щелочной, кислотной или ферментативной обработки. Затем полученную гомогенную биомассу экстрагируют органическим растворителем. Продукт после такой очистки от органических и минеральных примесей обрабатывают щелочным раствором для растворения белков. После белковый раствор отделяют от оставшейся биомассы и направляют на диализ. В процессе диализа из белкового раствора удаляют низкомолекулярные примеси. Белки, очищенные путем диализа, осаждают и высушивают. При этом полученную белковую массу используют в качестве добавок в различные пищевые продукты (сосиски, студни, паштеты, мясные и кондитерские начинки). Белки одноклеточных организмов применяют при получении искусственного мяса. С этой целью проводят текстурирование белков, т.е. нагревание с последующим быстрым охлаждением и продавливание белковой пасты через отверстия малого диаметра. Для улуч-

шения свойств в белковую пасту добавляют полисахариды и другие компоненты. Гидролизаты белков используют в качестве вкусовых приправ, для приготовления лекарственных препаратов и в лечебном питании.

Получение микробного белка на низших спиртах

Культивирование на метаноле. Основные преимущества метанола как субстрата для получения белка заключаются в высокой чистоте и отсутствии канцерогенных примесей, хорошей растворимости в воде, высокой летучести, позволяющей легко удалять его остатки из готового продукта. Кроме того, биомасса, полученная на метаноле, не содержит нежелательных примесей, что позволяет исключить из технологической схемы получения стадии очистки.

Однако, следует учитывать при реализации технологического процесса и такие особенности метанола, как горючесть и возможность образования взрывоопасных смесей с воздухом.

В качестве продуцентов, использующих метанол в конструктивном обмене, были изучены как дрожжевые, так и бактериальные штаммы. У дрожжей были рекомендованы в производство *Candida boidinii*, *Hansenulapolyomorpha* и *Piehiapastoris*, оптимальные условия для которых (температура 34–37 °С, значение рН 4,2–4,6) позволяют проводить процесс с экономическим коэффициентом усвоения субстрата до 0,40 при скорости потока в интервале 0,12–0,16 ч⁻¹. Среди бактериальных культур при получении белка на метаноле применяют *Methylomonasclara*, *Pseudomonasrosea* и др., способные развиваться при температуре 32–34°С и значении рН 6,0–6,4 с экономическим коэффициентом усвоения субстрата до 0,55 при скорости потока до 0,5 ч⁻¹.

Во многом особенности процесса культивирования обусловлены применяемым штаммом-продуцентом (дрожжи или бактерии) и условиями асептики. Ряд зарубежных компаний предлагает использовать дрожжевые штаммы и проводить выращивание без соблюдения условий строгой асептики. В этом случае технологический процесс протекает в ферментере инъекционного типа производительностью 75 т абсолютно сухого вещества (АСВ) в сутки, а удельный расход метанола составляет 2,5 т/т АСВ.

В ряде стран в качестве продуцентов применяются бактериальные штаммы. В данном случае процесс реализуется в асептических условиях в ферментерах эрлифитного или струйного типов производительностью 100–300 т/сут. и расходом метанола до 2,3 т/т АСВ. Ферментация осуществляется одностадийно при невысоких концентрациях спирта (до 12 г/л) с высокой степенью утилизации метанола.

Наиболее перспективным по своей конструкции является струйный ферментер Института технической химии (Германия). Такой ферментер объемом 1000 м³ состоит из секций, расположенных одна над другой и соединенных между собой шахтными переливами. Культуральная среда из нижней секции ферментера по напорному трубопроводу подается центробежными

циркуляционными насосами в верхние шахтные переливы, через которые проходит в низлежащую секцию, подсасывая при этом воздух из газовада. Таким путем ферментационная среда перетекает из секции в секцию, постоянно подсасывая новые порции воздуха. Падающие струи в шахтных переливах обеспечивают интенсивное аэрирование среды культивирования.

Питательная среда непрерывно подается в зону верхних шахтных переливов, а микробная суспензия отводится из выносных контуров.

На стадии выделения для всех видов продуцентов предусмотрено отделение грануляции с целью получения готового продукта в виде гранул.

Культивирование на этаноле. В качестве микроорганизмов – продуцентов белка на этиловом спирте как единственном источнике углерода могут использоваться дрожжи (*Candida utilis*, *Sacharomyces lambica*, *Hansenula anomala*, *Acinetobacter calcoaceticus*). Процесс культивирования реализуют в одну стадию в ферментерах с высокими массообменными характеристиками при концентрации этанола не более 15 г/л.

Дрожжи, выращенные на этаноле, содержат (%): сырого протеина 60–62; липидов 2–4; золы 8–10; влаги до 10.

Получение белковых веществ на углеводном сырье

Исторически одним из первых субстратов, используемых для получения кормовой биомассы, были гидролизаты растительных отходов, предгидролизаты и сульфитный щелок, представляющие собой крупнотоннажные отходы целлюлозно-бумажного производства. Кроме того, интерес к углеводному сырью как основному возобновляемому источнику углерода значительно возрос и с экологической точки зрения, так как оно может служить основой для создания безотходной технологии переработки растительных продуктов.

В связи с тем, что гидролизаты представляют собой сложный субстрат, состоящий из смеси гексоз и пентоз, среди производственных штаммов продуцентов получили распространение такие виды дрожжей, как *C. utilis*, *C. scottii* и *C. tropicalis*, способные, наряду с гексозами, усваивать пентозы, а также переносить наличие фурфурола в культуральной среде.

Состав питательной среды в случае культивирования на углеводородном сырье существенно отличается от применяемого при выращивании микроорганизмов на углеводородном субстрате. В гидролизатах и сульфитных щелоках имеются в небольшом количестве практически все необходимые для роста дрожжей микроэлементы. Недостающие количества азота, фосфора и калия вводятся в виде общего раствора солей аммофоса, хлорида калия и сульфата аммония.

Ферментация проводится в эрлифтных биореакторах конструкции Лефрансуа-Мариёе объемом 320 и 600 м³.

Процесс культивирования дрожжей реализуется в непрерывном режиме при значении рН 4,2–4,6 и оптимальной температуре от 30 до 40 °С.

Грибной белок (микопротеин)

Микопротеин представляет собой пищевой продукт, состоящий в основном из мицелия гриба.

При его производстве используется штамм *Fusarium graminearum*, выделенный из почвы.

В настоящее время микопротеин производят с использованием опытной установки методом непрерывного культивирования. В данном случае в качестве субстрата используется глюкоза и другие питательные вещества, а источниками азота служат аммиак и аммонийные соли.

После завершения стадии ферментации культуру продуцента подвергают термической обработке для уменьшения содержания рибонуклеиновой кислоты, а затем отделяют мицелий методом вакуумного фильтрования.

При этом, если сопоставить биотехнологическое производство микопротеина с процессом биосинтеза белков животных, то выявится ряд его преимуществ. Помимо того, что в данном случае выше скорость роста, превращение субстрата в белок происходит несравненно более эффективно, чем при усвоении пищи домашними животными.

Кроме того, положительным фактором является волокнистое строение выращенной культуры продуцента; текстура биомассы мицелия близка к таковой у естественных продуктов, поэтому у полученного продукта может быть имитирована текстура мяса, а за счет добавок – его вкус и цвет. При этом плотность продукта зависит от длины гиф выращенного гриба, которая определяется скоростью роста.

После проведения всесторонних исследований питательной ценности и безвредности микопротеина министерство сельского хозяйства, рыболовства и пищевых продуктов дало разрешение на его продажу в Великобритании. Содержание питательных веществ в микопротеине приведено в таблице 1.

Таблица 1. Средний состав микопротеина и его сравнение с составом говядины

Компоненты	Состав, % (на сухой вес)	
	микопротеин	бифштекс
Белки	47	68
Жиры	14	30
Пищевые волокна	25	Следы
Углеводы	10	0
Зола	3	2
РНК	1	Следы

