



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ,
ПАТЕНТАМ И ТОВАРНЫМ ЗНАКАМ

(19) **RU** ⁽¹¹⁾ **2 243 678** ⁽¹³⁾ **C1**
(51) МПК⁷ **A 23 K 1/06, C 12 N 1/16, C
12 P 21/00**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21), (22) Заявка: 2003119568/13, 02.07.2003

(24) Дата начала действия патента: 02.07.2003

(45) Опубликовано: 10.01.2005 Бюл. № 1

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: RU 2054881 C1, 27.02.1996. RU 2159287 C1, 20.11.2000. RU 2183666 C2, 20.06.2002. RU 2128688 C1, 10.04.1999. RU 2155496 C2, 10.09.2000. RU 2173524 C2, 20.09.2001.

Адрес для переписки:

115470, Москва, пр-т Андропова, 19, кв.181, Л.И.
Серовой

(72) Автор(ы):

Галкина Г.В. (RU),
Илларионова В.И. (RU),
Куксова Е.В. (RU),
Горбатова Е.В. (RU),
Волкова Г.С. (RU)

(73) Патентообладатель(ли):

Общество с ограниченной ответственностью
"Биотех-Инжиниринг" (RU)

(54) СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ БЕЛКОВО-ВИТАМИННОГО КОРМА

(57) Реферат:

Изобретение предназначено для использования в кормопроизводстве. В способе приготовления белково-витаминного корма используют твердые или жидкие отходы производств по переработке природного сырья (зерно, мукомольные отходы, послеспиртовую барду, пивную дробину, плодовые выжимки или молочную сыворотку). Из твердых отходов и из крахмальных отходов готовят ферментализаты. В жидкие отходы или ферментализаты добавляют соль кобальта. На приготовленной питательной среде инкубируют молочнокислые и пропионовокислые бактерии парами штаммов: *Lactobacillus acidophilus* 1660/02 и *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii*

103/12; или *Lactobacillus acidophilus* 1660/02 и *Propionibacterium acnes* 1450/28; или *Lactobacillus plantarum* 578/25 и *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii* 103/12; или *Lactobacillus plantarum* 578/25 и *Propionibacterium acnes* 1450/28. Это позволяет получить корм, богатый витаминами и протеином и содержащий живые клетки молочнокислых и пропионовокислых бактерий, что обогащает микрофлору кишечника животных, которым скармливается полученный корм. Корм содержит защитные вещества (органические кислоты, ферментные системы) и поэтому выдерживает длительное хранение в сыром виде. 12 з.п. ф-лы, 1 табл.

RU 2 2 4 3 6 7 8 C 1

RU 2 2 4 3 6 7 8 C 1

RUSSIAN FEDERATION



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY,
PATENTS AND TRADEMARKS

(19) **RU** ⁽¹¹⁾ **2 243 678** ⁽¹³⁾ **C1**
(51) Int. Cl.⁷ **A 23 K 1/06, C 12 N 1/16, C
12 P 21/00**

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21), (22) Application: **2003119568/13, 02.07.2003**

(24) Effective date for property rights: **02.07.2003**

(45) Date of publication: **10.01.2005 Бюл. № 1**

Mail address:

**115470, Moskva, pr-t Andropova, 19, kv.181, L.I.
Serovoj**

(72) Inventor(s):

**Galkina G.V. (RU),
Illarionova V.I. (RU),
Kuksova E.V. (RU),
Gorbatova E.V. (RU),
Volkova G.S. (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Obshchestvo s ogranichennoj otvetstvenost'ju
"Biotekh-Inzhiniring" (RU)**

(54) **METHOD FOR PREPARING PROTEIN-VITAMIN FODDER**

(57) Abstract:

FIELD: fodder industry.

SUBSTANCE: invention relates to a method for preparing protein-vitamin fodder that involves solid or liquid waste in production and processing the natural raw (grains, milling waste, post-alcoholic distillery grains, beer pellets, fruit pulps or whey). Enzyme lysates are prepared from solid waste and starch waste. Cobalt salt is added to liquid waste or enzyme lysates. Prepared nutrient medium is used in incubation of lactobacillus and propionibacillus microorganisms taken by the following pairs: Lactobacillus acidophilus 1660/02 with Propionibacterium freudenreichii subsp. shermanii 103/12; or Lactobacillus acidophilus

1660/02 with Propionibacterium acnes 1450/28; or Lactobacillus plantarum 578/25 with Propionibacterium freudenreichii subsp. shermanii 103/12; or Lactobacillus plantarum 578/25 with Propionibacterium acnes 1450/28. This method provides preparing fodder enriched with vitamins and proteins and containing live cells of lactobacillus and propionibacillus microorganisms. Method enriches animal intestine microflora after feeding the prepared fodder to animals. Fodder comprises protective substances (organic acids, enzyme systems) and can be stored as crude form for the prolonged time.

EFFECT: improved preparing method, valuable properties of fodder.

13 cl, 1 tbl, 12 ex

RU 2 2 4 3 6 7 8 C 1

RU 2 2 4 3 6 7 8 C 1

Изобретение относится к биотехнологии, к сельскому хозяйству, к кормопроизводству.

Мировой дефицит белка к началу XXI века оценивается в 30-35 млн. тонн в год. Основным путем снижения этого дефицита является производство биомассы с помощью микробиологического синтеза.

5 Зерновое сырье - рожь, ячмень, пшеница, мукомольные отходы, в том числе некондиционные, используются на корм скоту или для приготовления комбикормов. Однако зерновое сырье не является полноценным кормом из-за низкого содержания в нем протеина, плохой перевариваемости его, неблагоприятного соотношения белков и углеводов. Более перспективным является получение белкового корма путем выращивания
10 микроорганизмов на зерновом сырье.

Ценным сырьем для выработки корма являются отходы отраслей промышленности, перерабатывающих природное сырье, однако рациональной утилизации отходов практически нет. Частично отходы направляются на корм скоту в сыром виде, но продолжительность их хранения не более 1 суток. Частично используют высушивание,
15 например, спиртовой барды, пивной дробины, но этот процесс неэффективен из-за большого расхода теплоэнергоресурсов и низкого качества высушенного продукта (по белку и другим полезным веществам).

Известен способ получения белково-витаминного корма путем инкубации микроорганизмов на питательной среде, содержащей минеральные соли и источник
20 углерода в виде отхода производства по переработке природного сырья с получением целевого продукта в виде биомассы микроорганизмов (Патент RU №2183666, кл. C 12 F 3/10, C 12 P 7/06, A 23 K 1/06, опубл. 20.06.2002 г.) [1].

В качестве отходов производства по переработке природного сырья в данном известном способе используют зерно, которое измельчают, подвергают ферментативному гидролизу с
25 получением ферментолизата, из которого готовят питательную среду для выращивания на ней дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* с целью получения спирта. Полученную биомассу используют в корм.

Однако дрожжи выращивают в аэробных условиях, что требует значительных энергозатрат на подачу воздуха в среду для их инкубации. Для использования полученной
30 биомассы в корм необходимо подвергнуть ее термической обработке с целью прекращения жизнедеятельности дрожжей. Такая обработка требует значительных энергозатрат и сопровождается разрушением части биологически активных компонентов корма. Такой корм не содержит живых клеток, способных поселяться в желудочно-кишечном тракте животного и улучшить его работу.

Известен способ получения белково-витаминного корма путем инкубации микроорганизмов на питательной среде, содержащей минеральные соли и источник
35 углерода в виде отхода производства по переработке природного сырья (Патент RU №2054881, кл. A 23 K 1/165, опубл. 27.02.96 г.) [2].

В качестве отходов производства по переработке природного сырья в данном известном случае используют молотое зерно и отходы мукомольного производства, которые
40 подвергают термической обработке, после чего проводят совместное выращивание дрожжей рода *Candida* и бактерий, продуцирующих амилалитические ферменты, которые осуществляют ферментативный гидролиз молотого сырья и отходов мукомольного производства.

Недостатком данного известного способа является использование для получения белкового корма дрожжей рода *Candida*, которые являются условно-патогенным микроорганизмом, что требует дополнительного процесса термолиза и специального
45 оборудования, а также сложной системы обезвреживания стоков и воздушных выбросов, требует значительных объемов используемого воздуха. Санитарно-эпидемиологическими
50 правилами СанПиН 2.3.2.1078-01 дрожжи рода *Candida* включены в перечень веществ, которые оказывают вредное воздействие на здоровье человека.

К существенным недостаткам этого способа следует также отнести большой расход воздуха и теплоэнергоресурсов, потребность в высокопроизводительном, сложном и

энергоёмком оборудовании и значительный расход вспомогательных материалов.

Известен способ получения белково-витаминного корма путем инкубации микроорганизмов на питательной среде, содержащей послеспиртовую барду, с получением биомассы, которую смешивают с углеводсодержащим компонентом (Авторское
5 свидетельство СССР №1500671, кл. С 12 Р 7/06, опубл. 1990 г.) [3].

В качестве микроорганизмов в данном известном случае используют дрожжи, что требует проведения аэрации при их инкубации, а полученный корм подлежит термообработке, так как он не должен содержать живых дрожжевых клеток. Это приводит к снижению биологической ценности корма.

Известен способ получения белково-витаминного корма путем инкубации микроорганизмов на питательной среде, содержащей минеральные соли и источник углерода в виде отхода производства по переработке природного сырья. (Патент RU №2159287, кл. С 12 Р 21/00, А 23 К 1/06, опубл. 20.11.2001 г.) [4].

В данном известном способе в качестве отхода используют послеспиртовую барду, в
15 которую вносят крахмалсодержащее сырье - отход зерно-мукомольного производства. Приготовленную смесь подвергают термической обработке в кислой среде, а на полученном гидролизате выращивают биомассу бактерий *Pseudomonas biforme* ВСБ - 644.

Однако полученную биомассу подвергают термической обработке, что приводит к снижению ее биологической ценности. В приготовленном корме отсутствуют живые клетки, обогащающие микрофлору кишечника животных, потребляющих корм. Корм не подлежит
20 длительному хранению в сыром виде.

Техническим результатом, достигаемым настоящим изобретением, является получение корма, богатого биологически активными компонентами и белком, содержащего защитные
25 вещества и живые клетки микроорганизмов, обогащающие микрофлору желудочно-кишечного тракта животных, упрощение технологического процесса, снижение энергозатрат, повышение сохранности сырого корма.

Указанный технический результат достигается тем, что способ получения белково-витаминного корма заключается в инкубации микроорганизмов на питательной
30 среде, содержащей минеральные соли и источник углерода в виде отхода производства по переработке природного сырья или в виде ферментолизата отхода с получением целевого продукта в виде биомассы инкубируемых микроорганизмов, при этом в качестве минеральных солей используют соль кобальта, в качестве отхода производства используют зерно, мукомольные отходы, крахмальные отходы, послеспиртовую барду, пивную дробину, плодовые выжимки или молочную сыворотку, ферментолизат готовят из
35 зерна, мукомольных отходов, крахмальных отходов, пивной дробины или плодовых выжимок, а инкубируют на питательной среде культуры молочнокислых и пропионовокислых бактерий, используемые парами: совместно молочнокислые и пропионовокислые бактерии или последовательно: сначала инкубируют молочнокислые бактерии, а затем продолжают совместную инкубацию молочнокислых и пропионовокислых
40 бактерий.

Целесообразно инкубировать на питательной среде пары штаммов молочнокислых и пропионовокислых бактерий: *Lactobacillus acidophilus* 1660/02 и *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii* 103/12; или *Lactobacillus acidophilus* 1660/02 и *Propionibacterium acnes* 1450/28; или *Lactobacillus plantarum* 578/25 и *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii* 103/12; или *Lactobacillus plantarum* 578/25 и *Propionibacterium acnes* 1450/28.
45

Пары молочнокислых и пропионовокислых бактерий рекомендуется вносить в питательную среду в соотношении (0,8-1,2):(0,8-1,2) в количестве 5-20% об., а инкубацию вести при периодическом перемешивании при температуре 37-50°C и pH 5,9-6,0.

При последовательной инкубации совместную инкубацию молочнокислых и пропионовокислых бактерий целесообразно проводить после 1,5-6 ч предварительной инкубации молочнокислых бактерий.
50

Целевой продукт с повышенной биологической ценностью, обогащенный живыми

клетками, находящимися в активной фазе роста, можно получать инкубацией пары микроорганизмов на питательной среде в течение 3-23,9 ч, а целевой продукт с повышенным содержанием белка - их инкубацией в течение 24-50 ч.

5 Ферментолизат зерна, мукомольных отходов или крахмальных отходов можно получать путем их обработки гидролитическими ферментами: сначала целлюлолитическим, а затем - смесью целлюлолитического и амилолитического, при этом зерно и мукомольные отходы предварительно измельчают, целлюлолитический фермент вносят ступенчато: сначала в количестве 20-22 ед/г сухого вещества целлюлозы и выдерживают приготовленную смесь при температуре 59-61°C и pH 6,0-6,5 в течение 55-65 мин, затем - при температуре 10 95-105 °С в течение 25-35 мин до достижения содержания редуцирующих веществ 3-5%, после чего дополнительно вносят 8-10 ед/г сухого вещества целлюлозы целлюлолитического фермента и 5-7 ед/г условного крахмала амилолитического фермента и приготовленную смесь выдерживают при температуре 45-50°C и pH 5,0-5,5 в течение 15-30 мин до достижения содержания редуцирующих веществ 7-10% с получением 15 ферментолизата.

Зерно или мукомольные отходы измельчают до прохода не менее 80% через сито с ячейками диаметром 1 мм, а обработке ферментами подвергают водную суспензию, приготовленную путем смешивания измельченных отходов с водой в соотношении 1:(3,0-3,5).

20 Для обработки ферментами крахмальных отходов готовят их 14-16%-ную водную суспензию.

В качестве целлюлолитических ферментов можно использовать β -глюканиду, ксиланазу или целлюлазу, а в качестве амилолитических - α -амилазу, β -амилазу или глюкоамилазу.

25 Ферментолизат зерна, мукомольных отходов или крахмальных отходов можно получать также путем их обработки амилолитическими ферментами, при этом отходы сначала обрабатывают 1,4-1,6 ед/г условного крахмала α -амилазы в течение 55-65 мин при температуре 59-61°C и pH 5,8-6,5, затем - в течение 25-35 мин при температуре 95-105°C, после чего дополнительно вводят 0,4-0,6 ед/г условного крахмала α -амилазы и 5,5-6,5 ед/г 30 условного крахмала глюкоамилазы и выдерживают 20-30 мин при температуре 45-50°C и pH 5,0-5,5 до достижения содержания редуцирующих веществ 7-10% с получением ферментолизата.

Для получения ферментолизата из пивной дробины целесообразно приготовить ее водную суспензию разведением водой в соотношении 1:1 и обрабатывать 35 амилолитическими ферментами: сначала ввести в нее 1,4-1,6 ед/г условного крахмала α -амилазы и приготовленную смесь выдерживать при температуре 59-61°C и pH 5,8-6,0 в течение 55-65 мин, а затем - в течение 55-65 мин при 74-76°C, после чего дополнительно ввести 0,4-0,6 ед/г условного крахмала α -амилазы и смесь выдерживать 35-40 мин при 59-61°C, затем ввести 5,5-6,5 ед/г условного крахмала глюкоамилазы и смесь 40 выдерживать 30-60 мин при температуре 45-50°C и pH 5,0-5,5 до достижения редуцирующих веществ 7-10% с получением ферментолизата.

Для получения ферментолизата из плодовых выжимок рекомендуется готовить их водную суспензию в соотношении 1:2, в нее ввести 1,7-1,9 ед/л пектолитического или 45 целлюлолитического фермента и полученную смесь выдерживать в течение 2-3 ч при температуре 45-50°C до достижения содержания редуцирующих веществ 10-15% с получением ферментолизата.

В качестве пектолитических ферментов можно использовать пектинэстеразу или полигалактуроназу, а в качестве целлюлолитического фермента - целлюлазу.

50 Сущность предлагаемого способа заключается в разработке технологии безотходного производства, предусматривающего получение биомассы микроорганизмов путем их инкубации на питательной среде, содержащей минеральные соли и источник углерода в виде жидких или твердых отходов производств по переработке природного сырья с получением высококачественного и легко перевариваемого и усваиваемого корма, богатого

протеином и обогащенного микроэлементами, витаминами, биологически полезными веществами, обладающего защитными свойствами, с применением микроорганизмов родов *Lactobacillus* и *Propionibacterium* для ферментации питательной среды с накоплением биомассы, продуктов метаболизма, ферментных систем, обогащающих кормовой продукт.

5 Ценность микроорганизмов, используемых способом согласно изобретению, состоит в том, что они потребляют моно- и дисахариды, промежуточные продукты гидролиза, пентозаны и другие органические вещества. В процессе культивирования они синтезируют, кроме биомассы, витамины, аминокислоты, комплексы ферментных систем, обладающих защитными и профилактическими свойствами. В результате получают белковый корм, обогащенный биологически активными компонентами, а также защитными веществами, обеспечивающими длительное хранение корма в сыром виде.

Влажный корм, получаемый способом согласно изобретению, может храниться в течение 3-6 месяцев без микробиологической порчи благодаря присутствию в нем защитных веществ (органические кислоты, их соли, ферментные системы и комплексы).

15 Ценным их свойством является возможность развиваться на различных сложных средах, не требуя дополнительного внесения питательных веществ.

Используемые микроорганизмы не являются спорообразующими, поэтому обезвреживания культуральной жидкости и стоков не требуется. Согласно СанПиН 2.3.2.1078-01 они входят в перечень веществ, не оказывающих вредного воздействия на пищевые продукты.

20 Эти микроорганизмы являются анаэробами, поэтому расхода воздуха не требуется, что делает процесс высокоэкономичным.

Способом согласно изобретению рекомендуется инкубировать пары культур молочнокислых и пропионовокислых бактерий в течение 3-23,9 ч или в течение 24-50 ч.

25 Более короткая продолжительность инкубации (3-23,9 ч) позволяет приготовить корм в виде биомассы клеток, находящихся в фазе экспоненциального роста. При попадании в желудочно-кишечный тракт животного такие живые клетки молочнокислых и пропионовокислых бактерий приживаются в нем и включаются в регулирование обменных процессов, повышают усвоение кормов и перевариваемость, способствуют увеличению привесов при скормливании их животным и птице, особенно молодняку. Такой корм также содержит белок, но в меньшем количестве, чем корм, получаемый более длительной инкубацией микроорганизмов.

30 При длительности культивирования микроорганизмов до 24-50 часов накапливается больше витамина В₁₂, который остается в твердой фазе культуральной жидкости, повышается объем биомассы, то есть выход корма, обогащенного белком.

Получаемый в результате ферментации микроорганизмов целевой продукт содержит белка 35-50% по сухому веществу, аминокислот 30-40%, обогащен витаминами Е и группы В, в том числе В₁₂, ферментными системами и комплексами, обеспечивающими защитные и профилактические свойства получаемого корма.

40 Если процесс выращивания биомассы молочнокислых и пропионовокислых бактерий проводят, например, в течение 18 ч, то целевой продукт содержит белка 35% по с.в., за время ферментации 24 часа - 39%, за 48 часов - 45% по с.в. За 18 ч культивирования (экспоненциальная фаза) накапливаются в культуральной жидкости защитные вещества - каталазно-пероксидазные комплексы, поэтому для получения кормового продукта с защитными свойствами процесс проводится до 23,9 часов, хотя накопление белка в этом случае меньше (35%).

45 Молочнокислые и пропионовокислые бактерии в этом случае находятся в активном состоянии размножения, что способствует благоприятному внедрению их из корма в желудочно-кишечный тракт животных, а также обладают наибольшей жизнеспособностью и устойчивостью при высушивании.

При культивировании бактерий в течение 24-50 часов идет интенсивное накопление биомассы с возрастанием содержания белка в клетках. Получаемый продукт больше обогащается витаминами и аминокислотами.

Способ согласно изобретению может быть использован для получения высокобелкового корма непосредственно на предприятиях по переработке природного сырья или на предприятиях по кормопроизводству и использоваться как в высушенном, так и в жидком виде.

5 Процесс ферментации может проводиться как непрерывным, так и объемно-доливным способом.

Приемом последовательного внесения в питательную среду сначала молочнокислых бактерий, а затем - пропионовокислых повышается выход целевого продукта за счет интенсификации роста пропионовокислых бактерий на среде, в которой содержатся
10 продукты жизнедеятельности молочнокислых бактерий.

Способ прост в исполнении. Питательная среда доступна, так как состоит только из отходов производств, к которым добавлена лишь одна соль кобальта, что удешевляет и упрощает способ. Процесс не требует аэрации, что снижает энергозатраты. Способ позволяет утилизировать большие объемы промышленных отходов, превращая их в
15 полноценный белково-витаминный корм.

Производство корма по способу согласно изобретению является безотходным.

Возможно перед высушиванием культуральную жидкость разделить на твердую и жидкую фазу путем фильтрации через фильтр-пресс или вакуум-фильтр и твердую фазу влажностью (50-60)% направлять на высушивание или использовать непосредственно в
20 виде обогащенного корма, а жидкую использовать, например, в спиртовом производстве вместо воды на замес или в других стадиях спиртового производства.

Ниже приведены примеры реализации способа.

Пример 1. В молочную сыворотку с содержанием сухих веществ 4-5% добавляют 0,9 мг/л CoCl_2 , подогревают до 50°C, вносят 20% об. клеток чистых культур *Lactobacillus acidophilus* 1660/02 и *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii* 103/12 в соотношении 0,8:1,2. Инкубацию проводят в течение 3 ч при температуре 45°C и pH 5,9-6,0. После высушивания полученной биомассы получают белково-витаминный корм, содержащий
25 клетки молочнокислых и пропионовокислых бактерий в экспоненциальной фазе роста.

Пример 2. Пивную дробину разводят водопроводной водой в соотношении 1:1, устанавливают pH на уровне 5,8-6,0, температуру 59-61°C и вносят 1,4 ед/г условного крахмала α -амилазы. Смесь выдерживают в этих условиях в течение 55 мин, а затем - 55 мин при температуре 74-76°C. После охлаждения смеси до 59-61°C вводят в нее 0,4 ед/г α -амилазы и выдерживают в этих условиях в течение 35 мин. Смесь охлаждают до
30 45-50°C и вносят 5,5 ед/г условного крахмала глюкоамилазы и выдерживают при pH 5,0 до достижения содержания редуцирующих веществ 6%, после чего в приготовленный ферментализат пивной дробины вводят 1,1 мг/л CoSO_4 , смесь чистых культур *Lactobacillus acidophilus* 1660/02 и *Propionibacterium acnes* 1450/28, взятых в соотношении 1,2:0,8 в количестве 5% об. Инкубацию ведут при периодическом перемешивании в течение 20 ч при
35 температуре 50°C и pH 5,9-6,0.

Полученную биомассу молочнокислых и пропионовокислых бактерий, находящихся в экспоненциальной фазе роста, высушивают и получают белково-витаминный корм.

Жизнеспособность клеток в готовом высушенном белковом корме сохранилась.

Полученный белково-витаминный продукт содержал протеина 49,6% по с.в., аминокислот 44,1% по с.в., углеводов 37,7% по с.в.
45

Пример 3. По методике примера 2 получают высококачественный белковый корм. При этом в водную суспензию пивной дробины вносят 1,6 г/л условного крахмала α -амилазы, приготовленную смесь выдерживают 65 мин при температуре 59-61°C и pH 5,8-6,0, затем 65 мин при температуре 74-76°C, дополнительно вводят 0,6 ед/г условного
40 крахмала α -амилазы и выдерживают 40 мин при 59-61°C, затем вводят 6,5 ед/г условного крахмала глюкоамилазы и смесь выдерживают 60 мин при 50°C и pH 5,5 до достижения содержания редуцирующих веществ 10% с получением ферментализата. В ферментализат вносят 1,1 мг/л CoSO_4 и на приготовленной среде 1,5 часа инкубируют чистую культуру

Lactobacillus plantarum 578/25, а затем к ней добавляют чистую культуру *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii* 103/12 и инкубацию продолжают еще 48,5 ч.

Пример 4. Мукомольные отходы измельчают до прохода не менее 80% через сито с ячейками диаметром 1 мм. Готовят водную суспензию измельченных мукомольных отходов путем их смешивания с водой в соотношении 1:3,0. В приготовленную суспензию вносят 20 ед/г сухого вещества целлюлозы целлюлолитического фермента β-глюканазы и выдерживают приготовленную смесь при температуре (59-61)°С и рН 6,0 в течение 55 мин, а затем при температуре 105°С в течение 25 минут до достижения содержания редуцирующих веществ 3-5%, после чего дополнительно вносят 8 ед/г целлюлозы β-глюканазы и 5 ед/г условного крахмала глюкоамилазы. Приготовленную смесь выдерживают при температуре 45°С и рН 5,0 в течение 30 мин до достижения содержания редуцирующих веществ 7-10%.

После обработки осахаренную массу используют для инкубации на ней микроорганизмов *Lactobacillus plantarum* 578/25 и *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii* 103/12, взятых в соотношении 1,2:0,8 при температуре 45°С и рН 5,9-6,0. Через 24 часа образуется белково-витаминный продукт с массовой долей протеина до 49,6% по с.в., с содержанием аминокислот 44,1% по с.в., содержанием углеводов 37,7% по с.в.

Пример 5. По методике примера 4 готовят водную суспензию из измельченных мукомольных отходов и воды, взятых в соотношении 1:3,5. В приготовленную суспензию вносят 22 ед/г сухого вещества целлюлозы целлюлолитического фермента целлюлазы и выдерживают приготовленную смесь при температуре 61°С и рН 6,5 в течение 65 мин, а затем при температуре 95°С в течение 35 минут до достижения содержания редуцирующих веществ 3-5%, после чего дополнительно вносят 10 ед/г целлюлозы целлюлазы и 7 ед/г условного крахмала глюкоамилазы. Приготовленную смесь выдерживают при температуре 50°С и рН 5,5 в течение 15 мин до достижения содержания редуцирующих веществ 7-10%. В смесь вносят культуры микроорганизмов *Lactobacillus plantarum* 578/25 и *Propionibacterium asnes* 1450/28, взятых в соотношении 0,8:1,2 и процесс ферментации продолжается 23,9 часов при температуре 37°С и рН 5,9-6,1.

Пример 6. По методике примера 4 готовят водную суспензию измельченных мукомольных отходов путем их смешивания с водой в соотношении 1:3,5. Для получения ферментолизата в приготовленную суспензию вносят 22 ед/г сухого вещества целлюлозы целлюлолитического фермента ксиланазы и выдерживают приготовленную смесь при температуре 61°С и рН 6,5 в течение 55 мин, а затем при температуре 105°С в течение 25 минут до достижения содержания редуцирующих веществ 3-5%, после чего дополнительно вносят 10 ед/г целлюлозы ксиланазы и 7 ед/г условного крахмала глюкоамилазы. Приготовленную смесь выдерживают при температуре 50°С и рН 5,5 в течение 30 мин до достижения содержания редуцирующих веществ 6-9%.

Штаммы микроорганизмов вносят в питательную среду последовательно, вначале *Lactobacillus*, а через 6 часов - *Propionibacterium*. Результаты свидетельствуют об увеличении скорости роста биомассы и увеличении выхода (см. таблицу).

Изменение выхода биомассы и продолжительности цикла при совместном и последовательном культивировании

Наименование штамма	Выход биомассы, %	Относительная продолжительность цикла
<i>Pr. freudenreichii</i> subsp. <i>shermanii</i>	100	1
<i>Pr. freudenreichii</i> subsp. <i>shermanii</i> <i>Lact. plantarum</i> (внесены одновременно)	130	0,84
<i>Lact. Plantarum Pr. freudenreichii</i> subsp. <i>shermanii</i> (внесена через 6 часов)	160	0,7

В таблице приведены показатели выхода биомассы и длительности процесса относительно аналогичных показателей в случае культивирования одной культуры пропионовокислых бактерий.

При одновременном внесении двух культур процесс характеризуется увеличением количества образующейся биомассы в 1,3 раза, что свидетельствует о большем

накоплении бактериальных клеток и сокращении продолжительности цикла на 16% по сравнению с внесением одной культуры.

При последовательном внесении культур (вначале молочнокислые, а затем пропионовокислые) количество образующейся биомассы увеличивается в 1,6 раза, а продолжительность цикла сокращается на 30%.

Пример 7. В послеспиртовую барду добавляют 1,1 мг/л CoCl_2 при температуре 45°C и засевают чистыми культурами микроорганизмов *Lactobacillus plantarum* 578/25 и *Propionibacterium acnes* 1450/28, которые вносят в питательную среду в количестве 20% по объему среды. Инкубацию проводят при периодическом перемешивании при температуре 40°C и pH 5,9-6,1 в течение 24 часов. Получаемый целевой продукт содержит белка 39% по с.в., аминокислот 28% по с.в.

Пример 8. Плодовые выжимки с влажностью 50-60% разводят водой в соотношении 1:2, смесь подогревают до температуры 45-50°C, в нее добавляют целлюлазу в количестве 1,8 ед/л и полученную смесь выдерживают в течение 3 ч при температуре 50°C до достижения содержания редуцирующих веществ 10-15% с получением ферментолизата. Добавляют 0,9 мг/л CoCl_2 и засевают чистыми культурами микроорганизмов *Lactobacillus plantarum* 578/25 и *Propionibacterium acnes* 1450/28, которые вносят в питательную среду в количестве 20% по объему среды. Инкубацию проводят при периодическом перемешивании при температуре 40°C и pH 5,9-6,1 в течение 48 часов.

Пример 9. Крахмальные отходы обрабатывают аналогично зерновому сырью и мукомольным отходам, исключая стадию измельчения. При приготовлении смеси - крахмальные отходы - вода, количество воды регулируют так, чтобы получить суспензию концентрацией 14-16%. Получают корм, богатый биологически активными веществами и белком.

Пример 10. Культуральную жидкость после ферментации с помощью консорциума микроорганизмов по примеру 7 подвергают предварительной фильтрации и высушиванию твердой фазы до влажности 10-12%. После фильтрации получается осадок влажностью 50-60%, который может использоваться в качестве готового влажного корма.

Высушенный продукт (обогащенный белковый корм) имеет следующий состав:

30 массовая доля сырого протеина, % по с.в. 45,9
 массовая доля углеводов, % по с.в. 44,2
 массовая доля золы, % по с.в. 2,5
 общее содержание аминокислот, % 43,4
 из них
 35 лизин+гистидин 2,15
 аргинин 1,25
 аспарагиновая кислота 4,25
 треонин 2,0
 серии 2,08
 40 глутаминовая кислота 14,84
 метионин+цистин 1,3
 глицин 2,6
 пролин 3,14
 фенилаланин+тирозин 2,65
 45 аланин 4,4
 изолейцин+лейцин 2,53
 массовая доля белка по Барштейну, % по с.в. 37,1
 массовая доля жира, % по с.в. 5,1
 общее содержание микроэлементов, мг/кг 21800
 50 из них
 фосфор 5900
 калий 3500
 натрий 500

кальций 11600

магний 1000

железо 750

кобальт 4,9

5 содержание витаминов, мг/кг

Е (токоферол) 43,5

В₁ (тиамин) 3,3

В₂ (рибофлавин) 7,7

В₃ (пантотеновая кислота) 35,3

10 В₄ (холин) 700

В₅ (никотиновая кислота) 26,8

В₆ (пиридоксин) 8,2

В₉ (фолиевая кислота) 18,0

В₁₂ (цианкобаламин) 34,4

15 обменная энергия, МДж 13,4

кормовых единиц, кг 1,37

Пример 11. Измельченное зерно, мукомольные отходы или крахмальные отходы используют для приготовления ферментализатов путем обработки их водных суспензий амилолитическими ферментами. Для этого в водную суспензию вносят 1,4 ед/г условного крахмала α -амилазы, смесь выдерживают 55 мин при температуре 59°C и рН 5,8, затем 35 мин при 95°C, после чего смесь охлаждают до 45°C, вводят в нее 0,4 ед/г условного крахмала α -амилазы и 6,5 ед/г условного крахмала глюкоамилазы. Выдерживают приготовленную смесь 30 мин при температуре 45°C и рН 5,0 до достижения содержания редуцирующих веществ 7% с получением ферментализата, на котором инкубируют пары культур молочнокислых и пропионовокислых бактерий с получением полноценного белково-витаминного корма.

Пример 12. По методике примера 11 готовят ферментализаты измельченного зерна, мукомольных отходов и крахмальных отходов, но сначала в водную суспензию вносят 1,6 ед/г условного крахмала α -амилазы, выдерживают 65 мин при температуре 61°C и рН 6,5, затем - 25 мин при 105°C, после чего вносят 0,6 ед/г условного крахмала α -амилазы и 5,5 ед/г условного крахмала глюкоамилазы. Приготовленную смесь выдерживают 20 мин. При температуре 50°C и рН 5,5 до достижения содержания редуцирующих веществ 10% с получением ферментализатов, на которых инкубируют пары культур молочнокислых и пропионовокислых бактерий с получением высококачественного белково-витаминного корма.

Таким образом, способ согласно изобретению позволяет получать высококачественный белково-витаминный корм, содержащий живые клетки молочнокислых и пропионовокислых бактерий. Способ прост в исполнении, не требует повышенных энергозатрат и обеспечивает полную утилизацию широкого спектра отходов отраслей промышленности по переработке природного сырья. Благодаря высокому содержанию защитных веществ (органических кислот) корм может длительно храниться в сыром виде.

Формула изобретения

1. Способ получения белково-витаминного корма, заключающийся в инкубации микроорганизмов на питательной среде, содержащей минеральные соли и источник углерода в виде отхода производства по переработке природного сырья или в виде ферментализата отхода с получением целевого продукта в виде биомассы инкубируемых микроорганизмов, при этом в качестве минеральных солей используют соль кобальта, в качестве отхода производства используют зерно, мукомольные отходы, крахмальные отходы, послеспиртовую барду, пивную дробину, плодовые выжимки или молочную сыворотку, ферментализат готовят из зерна, мукомольных отходов, крахмальных отходов, пивной дробины или плодовых выжимок, а инкубируют на питательной среде культуры

молочнокислых и пропионовокислых бактерий, используемые парами: совместно молочнокислые и пропионовокислые бактерии или последовательно: сначала инкубируют молочнокислые бактерии, а затем продолжают совместную инкубацию молочнокислых и пропионовокислых бактерий.

5 2. Способ по п.1, отличающийся тем, что инкубируют на питательной среде пары штаммов молочнокислых и пропионовокислых бактерий: *Lactobacillus acidophilus* 1660/02 и *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii* 103/12; или *Lactobacillus acidophilus* 1660/02 и *Propionibacterium acnes* 1450/28; или *Lactobacillus plantarum* 578/25 и *Propionibacterium freudenreichii* subsp. *shermanii* 103/12; или *Lactobacillus plantarum* 578/25 и *Propionibacterium*
10 *acnes* 1450/28.

3. Способ по любому из пп.1-2, отличающийся тем, что пары молочнокислых и пропионовокислых бактерий вносят в питательную среду в соотношении (0,8-1,2):(0,8-1,2) в количестве 5-20 об.%, а инкубацию ведут при периодическом перемешивании при температуре 37-50°C и pH 5,9-6,0.

15 4. Способ по любому из пп.1-3, отличающийся тем, что при последовательной инкубации совместную инкубацию молочнокислых и пропионовокислых бактерий проводят после 1,5-6 ч предварительной инкубации молочнокислых бактерий.

5. Способ по любому из пп.1-4, отличающийся тем, что целевой продукт с повышенной биологической ценностью, обогащенный живыми клетками, находящимися в активной фазе
20 роста, получают инкубацией пары микроорганизмов на питательной среде в течение 3-23,9 ч, а целевой продукт с повышенным содержанием белка получают их инкубацией в течение 24-50 ч.

6. Способ по любому из пп.1-5, отличающийся тем, что ферментолитат зерна, мукомольных отходов или крахмальных отходов получают путем их обработки
25 гидролитическими ферментами: сначала целлюлолитическим, а затем смесью целлюлолитического и амилолитического, при этом зерно и мукомольные отходы предварительно измельчают, целлюлолитический фермент вносят ступенчато: сначала в количестве 20-22 ед/г сухого вещества целлюлозы и выдерживают приготовленную смесь при температуре 59-61°C и pH 6,0-6,5 в течение 55-65 мин, затем - при температуре
30 95-105 °С в течение 25-35 мин до достижения содержания редуцирующих веществ 3-5%, после чего дополнительно вносят 8-10 ед/г сухого вещества целлюлозы целлюлолитического фермента и 5-7 ед/г условного крахмала амилолитического фермента и приготовленную смесь выдерживают при температуре 45-50°C и pH 5,0-5,5 в течение
35 15-30 мин до достижения содержания редуцирующих веществ 7-10% с получением ферментолитата.

7. Способ по любому из пп.1-6, отличающийся тем, что зерно или мукомольные отходы измельчают до прохода не менее 80% через сито с ячейками диаметром 1 мм, а обработке
40 ферментами подвергают водную суспензию, приготовленную путем смешивания измельченных отходов с водой в соотношении 1:(3,0-3,5).

8. Способ по любому из пп.1-5, отличающийся тем, что для обработки ферментами крахмальных отходов готовят их 14-16%-ную водную суспензию.

9. Способ по любому из пп.6-8, отличающийся тем, что в качестве целлюлолитических ферментов используют β-глюканазу, ксиланазу или целлюлазу, а в качестве
45 амилолитических - α-амилазу, β-амилазу или глюкоамилазу.

10. Способ по любому из пп.1-5, 7-9, отличающийся тем, что ферментолитат зерна, мукомольных отходов или крахмальных отходов получают путем их обработки
амилолитическими ферментами, при этом отходы сначала обрабатывают 1,4-1,6 ед/г условного крахмала α-амилазы в течение 55-65 мин при температуре 59-61°C и pH 5,8-6,5,
50 затем - в течение 25-35 мин при температуре 95-105°C, после чего дополнительно вводят 0,4-0,6 ед/г условного крахмала α-амилазы и 5,5-6,5 ед/г условного крахмала глюкоамилазы и выдерживают 20-30 мин при температуре 45-50°C и pH 5,0-5,5 до достижения содержания редуцирующих веществ 7-10% с получением ферментолитата.

11. Способ по любому из пп.1-5, отличающийся тем, что для получения ферментолизата из пивной дробины готовят ее водную суспензию разведением водой в соотношении 1:1 и обрабатывают амилолитическими ферментами: сначала вводят в нее 1,4-1,6 ед/г условного крахмала - α -амилазы и приготовленную смесь выдерживают при температуре 59-61°C и рН 5,8-6,0 в течение 55-65 мин, а затем - в течение 55-65 мин при 74-76°C, после чего дополнительно вводят 0,4-0,6 ед/г условного крахмала α -амилазы и смесь выдерживают 35-40 мин при 59-61°C, затем вводят 5,5-6,5 ед/г условного крахмала глюкоамилазы и смесь выдерживают 30-60 мин при температуре 45-50°C и рН 5,0-5,5 до достижения содержания редуцирующих веществ 7-10% с получением ферментолизата.

12. Способ по любому из пп.1-5, отличающийся тем, что для получения ферментолизата из плодовых выжимок готовят их водную суспензию в соотношении 1:2, в нее вводят 1,7-1,9 ед/л пектолитического или целлюлолитического фермента и полученную смесь выдерживают в течение 2-3 ч при температуре 45-50°C до достижения содержания редуцирующих веществ 10-15% с получением ферментолизата.

13. Способ по п.12, отличающийся тем, что в качестве пектолитических ферментов используют пектинэстеразу или полигалактуроназу, а в качестве целлюлолитического фермента - целлюлазу.

20

25

30

35

40

45

50