

Разработка технологии производства биомассы *Bacillus megaterium* кормового назначения



А. В. Баурина*^{ORCID}, Д. В. Баурин^{ORCID}, И. В. Шакир^{ORCID}, В. И. Панфилов^{ORCID}

Российский химико-технологический университет имени Д. И. Менделеева^{ROR}, Москва, Россия

Дата поступления в редакцию: 10.12.2020

Дата принятия в печать: 07.02.2021



*e-mail: tur.alexandra96@gmail.com

© А. В. Баурина, Д. В. Баурин, И. В. Шакир, В. И. Панфилов, 2021

Аннотация.

Введение. Получение белково-витаминных кормовых добавок для сельскохозяйственных животных является одной из актуальных задач современной промышленной биотехнологии. В Российской Федерации ежегодно образуется значительное количество вторичных продуктов переработки семян подсолнечника, которые являются перспективным источником для получения изолята белка подсолнечника. Целью исследования являлась разработка технологии производства бактериальной биомассы *Bacillus megaterium* кормового назначения.

Объекты и методы исследования. Изолят белка подсолнечника, ферментный препарат Protex 7L, а также штамм *B. megaterium* (ВКПМ В-3750). Определение содержания углеводов осуществляли модифицированным методом Бертрана. Определение аминного азота осуществляли формальным титрованием. Определение количества жизнеспособных клеток осуществляли методом Коха. Определение содержания протеиногенных аминокислот проводили методом капиллярного электрофореза.

Результаты и их обсуждение. Подсолнечный белок при обработке ферментными препаратами может стать альтернативным источником азота для культивирования промышленных микроорганизмов. В данной работе представлены результаты аминокислотного анализа изолята белка подсолнечника, а также ферментативного гидролизата, полученного с применением препарата Protex 7L. Сравнительный анализ содержания аминокислот в гидролизате и исходном изоляте белка показал, что ферментативный гидролиз позволяет увеличить содержание свободных аминокислот в среде, доступных для питания микроорганизмов. Показана возможность культивирования штамма продуцента витаминов группы В на ферментативном гидролизате белка подсолнечника, полученного с применением препарата Protex 7L.

Выводы. Результаты сравнительного исследования показали, что ферментативный гидролизат белка подсолнечника может быть использован в качестве источника азота для культивирования продуцента витаминов группы В в качестве альтернативы дорогостоящему мясному пептону. Технико-экономическая оценка процесса культивирования *B. megaterium* на ферментативных гидролизатах белка подсолнечника при мощности производства 100 кг/год показала, что себестоимость белково-витаминной добавки составляет 413 руб/кг. Срок окупаемости капитальных затрат по расчетам составляет 1,5 года.

Ключевые слова. Подсолнечник, шрот подсолнечный, изолят белка, ферментация, ферментативный гидролиз, кормовая добавка

Для цитирования: Разработка технологии производства биомассы *Bacillus megaterium* кормового назначения / А. В. Баурина, Д. В. Баурин, И. В. Шакир [и др.] // Техника и технология пищевых производств. – 2021. – Т. 51, № 1. – С. 134–145. <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-1-134-145>.

Original article

Available online at <http://fptt.ru/eng>

Technology for the *Bacillus megaterium* Fodder Biomass Production

Alexandra V. Baurina*^{ORCID}, Dmitry V. Baurin^{ORCID}, Irina V. Shakir^{ORCID}, Victor I. Panfilov^{ORCID}

D. Mendeleev University of Chemical Technology of Russia^{ROR}, Moscow, Russia

Received: December 10, 2020

Accepted: February 07, 2021



*e-mail: tur.alexandra96@gmail.com

© A.V. Baurina, D.V. Baurin, I.V. Shakir, V.I. Panfilov, 2021

Abstract.

Introduction. Obtaining protein and vitamin fodder is one of the urgent tasks that modern industrial biotechnology has to solve.

Another task is a search of novel medium compositions for microbial fermentation that can lower production costs. Russian food industry produces a significant amount of sunflower seed processing byproducts every year. Sunflower meal is a promising source of sunflower protein isolate. The research objective was to develop a new technology for the production of *Bacillus megaterium* bacterial biomass for fodder purposes.

Study objects and methods. The research featured a sunflower protein isolate, an enzyme complex Protex 7L, and a *B. megaterium* strain (VKPM B-3750). The carbohydrate content was determined using a modified Bertrand method. Amine nitrogen was studied using formol titration, the number of viable cells – by the Koch method, the content of amino acids – by capillary electrophoresis.

Results and discussion. When processed with enzyme complexes, sunflower protein can be an alternative source of nitrogen for industrial fermentation. The study featured amino acid of sunflower protein isolate and enzymatic hydrolyzate obtained using Protex 7L. A comparative analysis of the content of amino acids in the hydrolyzate and the protein isolate showed that enzymatic hydrolysis can significantly increase the content of free amino acids in the medium available for microbial accumulation. The research proved that sunflower protein enzymatic hydrolyzate obtained using Protex 7L can be used to cultivate strains of B vitamins producers.

Conclusion. Sunflower protein enzymatic hydrolyzate can be used as a nitrogen source for B vitamins producer fermentation and as an alternative to expensive meat peptone. The research involved technical and economic assessment of the *B. megaterium* fermentation on enzymatic hydrolysates of sunflower protein at a production capacity of 100 kg per year. The cost of the protein-vitamin supplement was calculated as 413 rubles per kg, while the market price could reach 826 rubles per kg. The payback period for capital expenditures was estimated at 1.5 years. Thus, replacing commercial meat peptone with sunflower protein enzymatic hydrolyzate obtained with Protex 7L reduced the cost of 1 kg of feed additive by three times without affecting *B. megaterium*. Overproduction of B vitamins by the *B. megaterium* strain on a medium containing sunflower protein hydrolyzate requires optimization of fermentation conditions.

Keywords. Sunflower, sunflower meal, protein isolate, fermentation, enzymatic hydrolysis, feed additive

For citation: Baurina AV, Baurin DV, Shakir IV, Panfilov VI. Technology for the *Bacillus megaterium* Fodder Biomass Production. Food Processing: Techniques and Technology. 2021;51(1):134–145. (In Russ.). <https://doi.org/10.21603/2074-9414-2021-1-134-145>.

Введение

Одной из актуальных проблем современной биотехнологии является эффективное использование вторичных продуктов сельского хозяйства для получения полезных продуктов с высокой добавленной стоимостью, направленных на повышение продуктивности животноводства, а также решение проблем экологического характера [1]. Растительные белки обладают большим потенциалом для использования в питании человека в качестве альтернативы животному белку [2]. Производство животного белка в 10 раз дороже, чем производство растительного. При этом около 30 % растительного белка выбрасывается или используется в кормлении животных [3].

Российская Федерация является одним из мировых лидеров по урожайности семян подсолнечника. В 2019 г. площадь посевов превысила 8,5 млн га, а урожайность составила 15,3 млн тонн.

Семена подсолнечника являются богатым источником жиров (от 30 до 50 %) и белков (от 14 до 19 %). При производстве подсолнечного масла образуется значительное количество отработанной массы, прошедшей экстракцию, с выделением подсолнечного масла [4]. Утилизация вторичного продукта производства подсолнечного масла – подсолнечного шрота – является актуальной проблемой [5]. Широкий спектр продуктов переработки семян подсолнечника включает значительное число полупродуктов. В первую очередь это шроты и жмыхи, состав которых варьируется в зависимости от сорта и технологии

переработки. Шроты и жмыхи используются в индустрии кормов. Вторая группа полупродуктов получается в результате глубокой переработки. К этой группе можно отнести сухие продукты – изоляты и концентраты белка пищевого и кормового назначения, депротенинизированный шрот и жидкие полупродукты – ферментативные и кислотные гидролизаты (рис. 1). Сухой остаток, остающийся после экстракции масла (шрот подсолнечника), является ценным источником белка (30–50 % в пересчете на сухое вещество), в составе которого преобладают два типа белков: гелиантинины (60–80 %) и альбумины подсолнечника (25–35 %) [6]. Ферментативный гидролиз подсолнечного шрота увеличивает содержание сырого белка в продукте и позволяет улучшить функциональные характеристики получаемого белка. Гидролизат подсолнечного шрота, полученный с применением папаина и грибной протеазы, может быть использован в качестве эмульгатора, антиоксиданта или белковой основы для косметических продуктов [7].

Шрот содержит большое количество ценных веществ (протеины, связанные сахара, минеральные и органические соли и т. д.) и может эффективно использоваться в качестве корма, топлива или органических удобрений. Ранее разработана технология получения продукта с высокой добавленной стоимостью – изолята белка подсолнечника. Технология включает в себя ферментативную обработку



Рисунок 1. Разнообразие продуктов переработки семян подсолнечника

Figure 1. Products of sunflower seed processing

протеолитическими препаратами шрота с последующей ультрафильтрацией, осаждением в изoeлектрической точке, промывкой и вакуумной сушкой [8]. Полученный неочищенный изолят белка может быть использован в качестве альтернативного источника аминного азота при культивировании продуцентов витаминов группы В с получением ценной кормовой добавки для сельскохозяйственной птицы и скота. Кормление сухими рассыпными или гранулированными комбикормами позволяет эффективно использовать сырьевые ресурсы и с наименьшими затратами достигать максимальной продуктивности [9]. Использование высокопротеинового подсолнечного концентрата в рационе цыплят-бройлеров для замены сои продемонстрировало положительные результаты для улучшения экономической эффективности откорма [10]. В связи с активным развитием российского животноводства остро встает вопрос получения белковых кормовых добавок, обогащенных витаминами, а также переработки подсолнечного белка в сухой продукт. Это позволяет рассматривать исследования, направленные на решение настоящих проблем, как имеющие большое практическое и социальное значение [11].

Поиск альтернативных экономических питательных сред для культивирования штаммов продуцентов витаминов группы В является актуальной задачей современной биотехнологии [12]. В ряде исследований в качестве субстратов для культивирования продуцентов витаминов группы В использовались следующие субстраты: кукурузный экстракт, отработанное подсолнечное масло,

свекловичная меласса, соевые бобы [13–16]. Прoдемонстрирован потенциал вторичных продуктов переработки картофеля для получения кормовой биомассы, обогащенной витаминами группы В [17].

Однако в литературе не представлено информации об использовании в качестве компонента питательных сред для культивирования продуцентов витаминов группы В белка подсолнечника или его ферментативных гидролизатов.

Целью исследования являлась разработка технологии производства бактериальной биомассы *Bacillus megaterium* кормового назначения. В работе представлены результаты использования ферментативной обработки изолята белка подсолнечника, а также результаты расчета основных технико-экономических показателей для получения бактериальной биомассы *B. megaterium* кормового назначения мощностью 100 кг/год.

Объекты и методы исследования

Перечень используемого сырья, реактивов и материалов, применяемых для получения кормовой биомассы, обогащенной витаминами группы В, представлены в таблице 1.

Технический изолят белка подсолнечника производят из подсолнечного шрота, который по органолептическим, химико-технологическим и микробиологическим показателям должен соответствовать требованиям, приведенным в таблице 2.

Ферментативный гидролиз изолята белка подсолнечника проводили в колбе Эрленмейера

Таблица 1. Характеристика основного и вспомогательного сырья

Table 1. Fixed and auxiliary raw materials

№ п/п	Наименование сырья, реактивов и материалов	Характеристика сырья
1	Технический изолят белка подсолнечника	Содержание сырого протеина не менее 85 %
2	Ферментный препарат Protex 7L	Протеолитическая активность не менее 1600 ед/г определяется по результатам гидролиза азо-казеина при pH 7,5 в течение 5 мин при 30 °С
3	Натрий хлористый	В соответствии с ГОСТ 4233-77
4	Лапрол 3003	В соответствии с ТУ 2226-022-10488057-95
5	Кислота соляная	В соответствии с ГОСТ 3118-77
6	Натрия гидроокись	В соответствии с ГОСТ 4328-77

Таблица 2. Описание внешнего вида и потребительских свойств технического изолята белка подсолнечника

Table 2. Appearance and consumer properties of technical isolate of sunflower protein

Наименование показателей	Характеристика и значение показателя
Внешний вид	Порошкообразный
Цвет	Светло-кремовый/светло-желтый/серый
Запах	Не имеет специфического запаха; допускается наличие запаха, свойственного подсолнечнику
Влажность, %, не более	5,0
Содержание сырого протеина % на сухое вещество, не менее	85,0
Суммарное содержание растворимого протеина, % на сухое вещество, не менее	83,8
Содержание липидов, % на сухое вещество, не более	0,5
Содержание NaCl, % на сухое вещество, не более	1,0
Содержание неорганических веществ % на сухое вещество, не более	1,0

объемом 250 мл при 50 °С и pH 7. 10 г изолята белка подсолнечника смешивали с 100 мл дистиллированной воды, pH доводили с помощью 2М NaOH или 2М HCl. 0,1 мл ферментного препарата добавляли к буферу PBS pH 7,2. Затем полученную смесь добавляли к суспензии белка. Гидролиз проводили на водяной бане в течение 24 ч с использованием магнитной мешалки. Полученные гидролизаты использовали в качестве среды для культивирования *Bacillus megaterium*.

Штамм продуцент кормовой биомассы *B. megaterium* (ВКПМ В-3750) был приобретен в Российской национальной коллекции промышленных микроорганизмов ВКПМ. Он является продуцентом витаминов группы В. *B. megaterium* выращивали на скошенном агаре при 37 °С в течение 24 ч. Затем 1 мл суспендированной клетки инокулировали в колбу Эрленмейера объемом 250 мл, содержащую 100 мл питательной среды. Культивирование проводили при 37 °С на роторном шейкере при 180 об/мин. Через 24 ч 10 мл посевной культуры переносили в колбу Эрленмейера объемом 250 мл, содержащую 100 мл питательной среды, и культивировали при 37 °С на роторном шейкере при 180 об/мин в течение 24 ч.

Определение содержания редуцирующих веществ (РВ) осуществляли модифицированным методом Бертрана. Определение аминного

азота осуществляли формольным титрованием. Определение количества жизнеспособных клеток осуществляли методом Коха. Определение содержания протеиногенных аминокислот проводили методом капиллярного электрофореза с использованием системы «Капель-105» (длина волны 254 нм, температура 30 °С, давление 30 мбар, время ввода 5 с, напряжение 25 кВ, давление 0–50 мбар, время анализа 10–15 мин) в соответствии с ГОСТ 55569-2013.

Результаты и их обсуждение

Белковый концентрат получается при обработке обезжиренного растительного шрота. Последующая обработка позволяет получить изолят белка, но в продукте значительно снижается содержание фенольных соединений и клетчатки. Нативные белки растительного происхождения имеют плохую растворимость. Самая низкая растворимость наблюдается в области изоэлектрической точки. Ферментативный гидролиз белков, в отличие от химического, дает возможность не только точечно регулировать процесс в сторону получения желаемых продуктов гидролиза, но и получать аминокислоты пищевого качества. При обработке белкового изолята протеолитическими ферментными препаратами образуются белковые гидролизаты,



Рисунок 2. Аминокислотные профили изолята белка подсолнечника и ферментативного гидролизата изолята белка подсолнечника, полученного с применением препарата Protex 7L

Figure 2. Amino acid profiles of sunflower protein isolate and enzymatic hydrolyzate of sunflower protein isolate obtained using Protex 7L

обладающие высокой растворимостью в широком диапазоне рН и температур, по сравнению с исходными белками, а также характеризующиеся функциональными свойствами (например, антиоксидантной активностью). Обработка нативного белка ферментными препаратами позволяет достигнуть максимальной растворимости в области изоэлектрической точки. Дальнейшая обработка получаемого изолята белка протеолитическими ферментными препаратами с образованием подсолнечного пептона может улучшить функциональные характеристики белка.

Препарат Protex 7L был выбран для проведения ферментативного гидролиза изолята белка подсолнечника на основании ранее проведенных исследований [18].

Аминокислотные профили исходного изолята белка подсолнечника и ферментативного гидролизата изолята белка подсолнечника, полученного с применением препарата Protex 7L, представлены на рисунке 2. Аминокислотный профиль изолята белка подсолнечника согласуется с результатами,

полученными другими исследователями [19, 20]. Содержание аминокислот в ферментативном гидролизате существенно превосходит содержание свободных аминокислот в исходном изоляте белка подсолнечника.

На основании данных аминокислотного анализа изолята белка подсолнечника и ферментативного гидролизата, полученного с применением препарата Protex 7L, было предложено использование ферментативного гидролиза изолята белка подсолнечника протеолитическими препаратами для улучшения его биодоступности. Это позволило бы расширить область применения белка. Например, в качестве источника азота при культивировании микроорганизмов.

Замена мясного пептона ферментативными гидролизатами белка подсолнечника в качестве источника азота не оказала негативного влияния на рост микроорганизмов (табл. 3).

В результате ферментативной обработки высокомолекулярные белковые комплексы в составе изолята белка подсолнечника могут быть

Таблица 3. Результаты культивирования *Bacillus megaterium* в контрольных средах, а также на ферментативном гидролизате белка подсолнечника

Table 3. Results of cultivation of *Bacillus megaterium* in control media and on enzymatic hydrolyzate of sunflower protein

Параметр	Подсолнечный белок	Мясной пептон	Ферментативный гидролизат белка подсолнечника, полученный с использованием препарата Protex 7L
Концентрация РВ начальная, г/л	0,66	0,79	1,35
Концентрация аминного азота начальная, мг/л	364,00	714,00	784,00
Концентрация РВ конечная, г/л	0,36	0,25	1,07
Концентрация аминного азота конечная, мг/л	84,00	28,00	84,00
ln(KOE/мл)	17,58	21,64	21,72
Степень потребления аминного азота, %	76,92	96,08	89,29
Удельная скорость роста, μ , ч ⁻¹	0,11	0,31	0,32

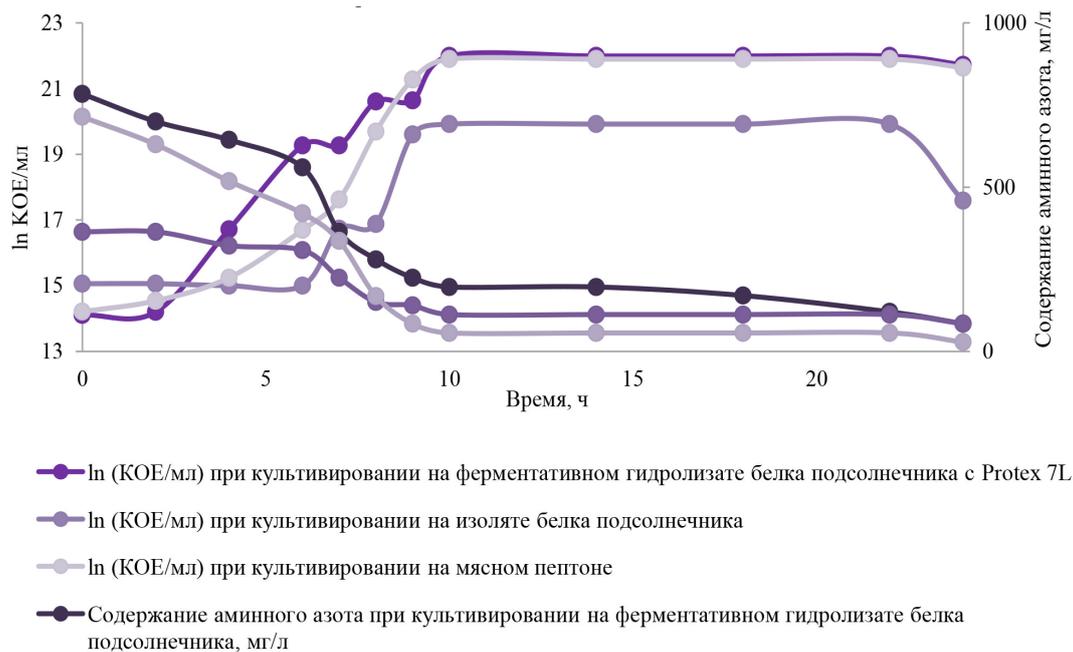


Рисунок 3. Кривая роста ln (КОЕ/мл) *Bacillus megaterium* и потребления аминокислотного азота (мг/л) на среде, содержащей изолят белка подсолнечника, мясной пептон и ферментативный гидролизат белка подсолнечника с Protex 7L

Figure 3. Growth curve ln (CFU/mL) of *Bacillus megaterium* and amine nitrogen consumption (mg/L) on a medium containing sunflower protein isolate, meat peptone, and enzymatic hydrolyzate of sunflower protein with Protex 7L

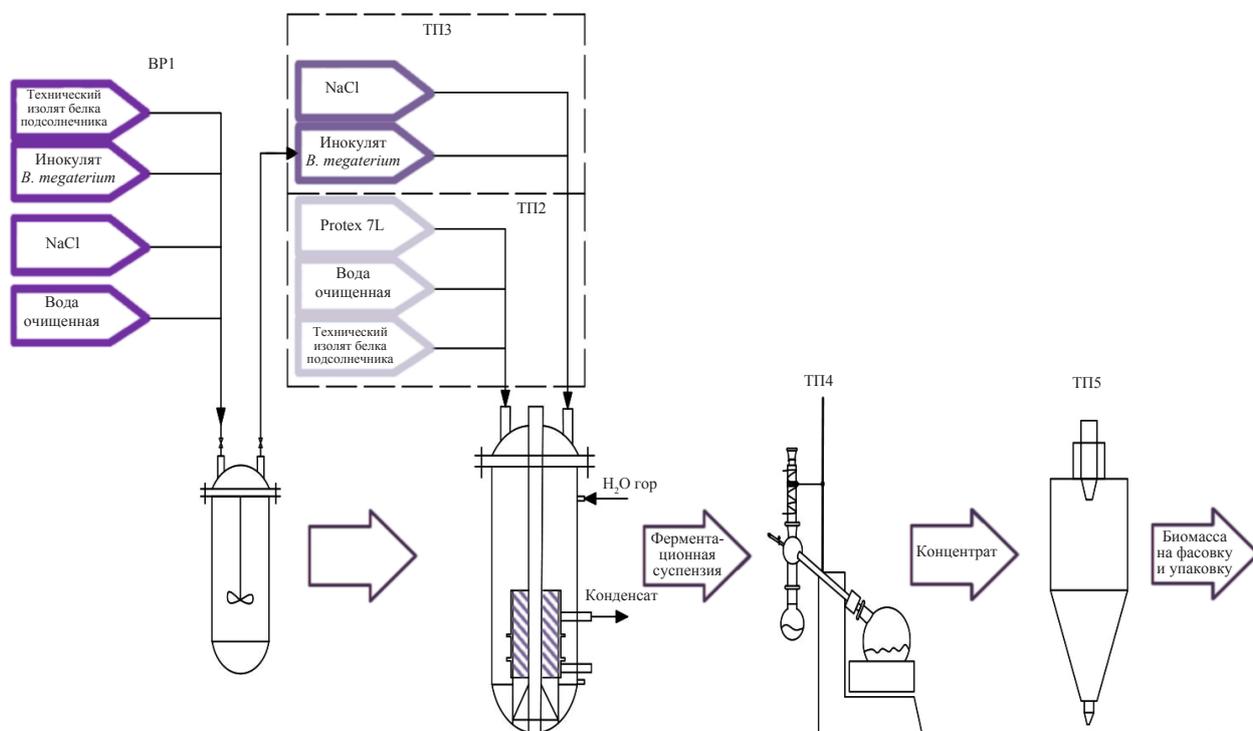


Рисунок 4. Аппаратурная схема производства кормовой биомассы, обогащенной витаминами группы В

Figure 4. Apparatus scheme for the production of feed biomass fortified with B vitamins

«разбиты» на доступные питательные вещества для роста бактерий. Сравнительные результаты культивирования на контрольных средах и среде, содержащей гидролизат белка подсолнечника, подтвердили, что предложенная схема обработки может быть применена для замены мясного пептона в составе питательных сред (рис. 3). Степень потребления аминного азота при культивировании бактерий на среде, содержащей гидролизат белка подсолнечника, составила 89,29 и 96,08 % на среде, содержащей мясной пептон в качестве источника азота. Удельная скорость роста микроорганизмов при культивировании на ферментативном гидролизате белка подсолнечника не уступала показателям при культивировании на традиционной среде и составила 0,32 и 0,31 ч⁻¹ соответственно.

Сверхпродукция витаминов группы В при культивировании *B. megaterium* на средах с использованием ферментативных гидролизатов белка подсолнечника требует дальнейших исследований и оптимизации процесса.

На основании полученных результатов культивирования была предложена аппаратная (рис. 4) и принципиальная технологическая схемы (рис. 5) процесса культивирования *B. megaterium* (ВКПМ В-3750) на ферментативном гидролизате изолята белка подсолнечника, полученного с применением препарата Protex 7L.

Технология получения кормовой биомассы *B. megaterium*, выращиваемой на ферментативном гидролизате изолята белка подсолнечника, включает следующие стадии:

- санитарная обработка помещений;
- подготовка стерильной воды, воздуха;
- приготовление и стерилизация питательной среды;
- приготовление и стерилизация пеногасителя;
- стерилизация оборудования и коммуникаций;
- наработка чистой культуры продуцента и приготовление инокулята;
- подготовка и стерилизация титрантов;
- ферментативный гидролиз;
- ферментация;

- концентрирование биомассы (выпаривание);
- распылительная сушка биомассы;
- взвешивание, фасовка, маркировка и хранение готового продукта.

Общие обозначения технологических стадий и операций: ТП – технологический процесс; ВР – вспомогательная работа; ПО – переработка отходов, УМО – упаковка и маркировка готовой продукции.

Ферментативный гидролиз изолята белка подсолнечника проводят в биореакторе с мешалкой объемом 15 л с рабочим объемом 10 л (ТП2). Технический изолят белка подсолнечника загружают в биореактор, добавляют очищенную воду и осуществляют перемешивание. После того как в биореакторе установится температура 50 °С добавляют раствор ферментного препарата. Гидролиз ведут на протяжении 24 ч с постоянным перемешиванием и контролем значения рН в диапазоне 6,8–7,2. Подтитровку ведут при помощи 10 % раствора HCl и 10 % раствора NaOH. По истечении 24 ч реактор охлаждают до 37 °С.

Процесс выращивания бактерий *B. megaterium* осуществляют периодическим способом (ТП3). Выращивание биомассы на питательной среде, содержащей технический изолят белка подсолнечника (ТИБП), ведут в аппаратах с барботажной системой аэрации. Готовый инокулят непрерывно подают в ферментер в соотношении 1/10 рабочего объема аппарата. Культивирование проводят при рН 6,8–7,0 и температуре 35–37 °С. Время пребывания среды в аппарате 12 ч. Для регуляции рН среды с помощью насоса из сборника подается 10 %-ный раствор соляной кислоты или 10 %-ный раствор аммиачной воды. Для контроля роста культуры производится отбор проб через каждые 4 и 12 ч с последующим определением КОЕ/мл и концентрации витаминов группы В. Показатель КОЕ/мл в конце ферментации должен составлять не менее 10¹⁰ КОЕ/мл, а содержание витамина В₁₂ в культуральной жидкости не менее 5 мг/л. Отработанный воздух поступает в систему очистки газо-воздушных выбросов.

Таблица 4. Описание внешнего вида и потребительских свойств кормовой добавки, обогащенной витаминами группы В

Table 4. Appearance and consumer properties of the feed additive fortified with B vitamins

№	Наименование показателей	Характеристика и значение показателей
1	Внешний вид	В виде порошка
2	Цвет	Зеленый
3	Запах	Не обладает специфическим запахом
4	Влажность, %, не более	5,0
5	Содержание сырого протеина, % на сухое вещество, не менее	60,0
6	Содержание растворимого протеина, % на сухое вещество, не менее	60,0
7	Содержание липидов, % на сухое вещество, не более	0,5
8	Содержание поваренной соли, % на сухое вещество, не более	1,0
9	Содержание неорганических веществ % на сухое вещество, не более	1,0

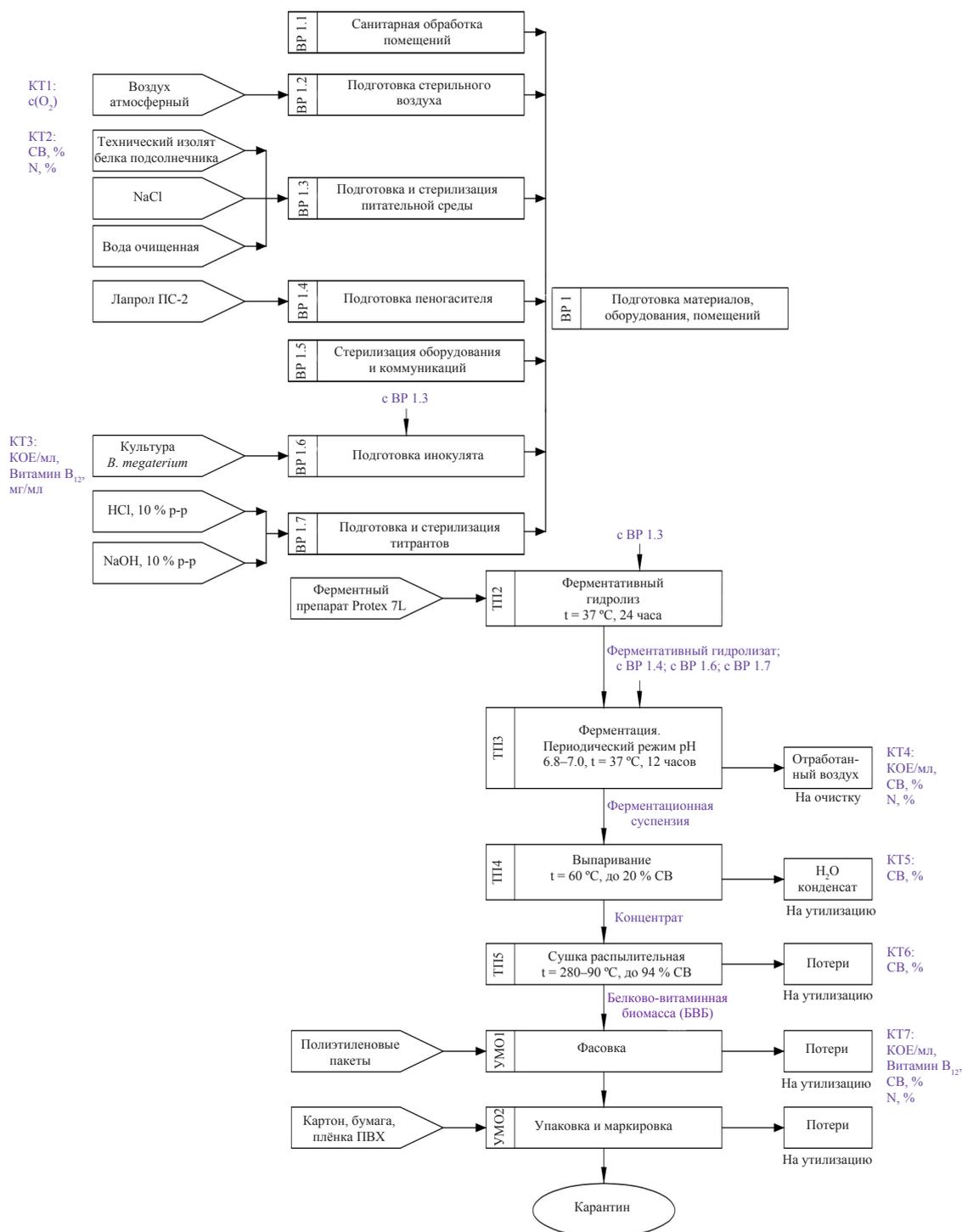


Рисунок 5. Принципиальная технологическая схема производства кормовой биомассы, обогащенной витаминами группы В

Figure 5. Basic technological scheme for the production of feed biomass fortified with B vitamins

Сгущение ферментационной суспензии осуществляют с применением вакуумных выпарных аппаратов до достижения показателя СВ 20–30 % в течение 5 ч (ТП4). Потери на станции концентрирования составляют 10 %.

Бактериальную суспензию после ТП4 доводят до остаточной влажности 10 % с использованием распылительной сушилки (ТП5). Концентрат из сборника направляется в дисковый распылитель, расположенный в верхней части распылительной

Таблица 5. Сводная таблица основных технико-экономических показателей проектируемого предприятия

Table 5. Technical and economic indicators of the business project

Наименование показателя	Единица измерения	Показатели продукта
Годовой выпуск продукции в натуральном выражении	кг	104
Капитальные затраты	тыс. руб	61768
Удельные капитальные вложения	руб	507
Полная себестоимость единицы продукции	руб	413,25
Полная себестоимость годового выпуска продукции	руб	42978
Стоимость годового выпуска продукции	руб	85956
Валовая прибыль от реализации	руб	42978
Чистая прибыль	руб	30698,6
Стоимость основных производственных фондов	руб	41218000
Стоимость нормируемых оборотных средств	руб	3200000
Рентабельность продукции	%	71,4
Срок окупаемости капитальных затрат	год	1,5

сушилки. Вращение распыливающего диска осуществляется с помощью электропривода. Концентрат проходит по радиальным каналам диска и под влиянием центробежной силы превращается в мелкие капли с размерами 5–100 мкм. Эти капли оседают на коническое днище сушилки в течение нескольких секунд. За это время происходит сушка биомассы до влажности 10 %. В качестве теплоносителя используются топочные газы, полученные при полном сгорании топлива и разбавленные атмосферным воздухом до 300–350 °С. В качестве топлива в теплогенераторе сжигается мазут. Также можно использовать природный газ. Температура теплоносителя на выходе из аппарата после контакта с мелкодисперсной суспензией (испарение воды) составляет 90–95 °С. Суспензия поступает на сушку с температурой 75 °С. Основное количество (80–85 %) высушенной биомассы отбирается в конусной части сушильной камеры.

Высушенная биомасса подается в батарею циклонов по пневматической трубе, где происходит отделение биомассы от воздушного потока. Сухая биомасса в виде порошка отбирается в самой нижней части его конуса и из нижней части батареи циклонов. Выделяющиеся из него газо-воздушные выбросы направляются на очистку. Затем сухая биомасса бактерий поступает на упаковку и маркировку готовой продукции. Отработанный воздух поступает в систему очистки газо-воздушных выбросов.

Готовый продукт кормового назначения с влажностью 10 % подается в бункер (ТП6). Далее биомасса перемещается на автоматические весы для взвешивания и упаковывается в крафт-мешки с клапанами в соответствии с ГОСТ 2226-88. С помощью транспортера и электропогрузчика мешки на поддонах размещаются в штабеля на складе (ГОСТ 20083-74).

Основное назначение готовой продукции – добавка кормового назначения для сельскохозяйственной птицы и скота, обогащенная витаминами группы В.

Продукт по органолептическим, химико-технологическим и микробиологическим показателям должен соответствовать требованиям, приведенным в таблице 4.

Оптимальные условия для хранения кормового продукта: в закрытых пластиковых пакетах при температуре до 20 °С и при влажности воздуха не более 80 %. Хранить в темном месте. Необходимые данные, указываемые на упаковке: название, дата производства и фасовки, номер партии и процентное содержание сырого протеина. Срок годности – 1 год.

На основании полученных результатов были рассчитаны основные технико-экономические показатели процесса получения кормовой биомассы *B. megaterium* мощностью 100 кг/год (табл. 5). По результатам расчетов замена коммерческого мясного пептона на ферментативный гидролизат белка подсолнечника, полученный с применением ферментного препарата Protex 7L, позволяет снизить себестоимость кормовой добавки в 3 раза: с 1266 до 413 руб за 1 кг в результате снижения затрат на сырье.

Выводы

Аминокислотный анализ ферментативных гидролизатов изолята белка подсолнечника показал, что при обработке ферментным препаратом Protex 7L гидролиз протекает эффективно. Концентрация аминокислот в гидролизате составляет 784 мг/л. Содержание свободных аминокислот в гидролизате значительно превышает содержание аминокислот в исходном изоляте белка подсолнечника. Показано, что ферментативные гидролизаты изолята белка подсолнечника могут быть использованы в качестве единственного источника питательных веществ при культивировании *Bacillus megaterium*.

В данной работе представлены результаты разработки технологической части проекта

производства бактериальной биомассы *B. megaterium* кормового назначения мощностью 100 кг/год.

Себестоимость белково-витаминной биомассы (БВБ) сильно варьируется в зависимости от штамма-продуцента, субстратов, на которых происходит культивирование. Технология биосинтеза БВБ в промышленных масштабах до сих пор находится на стадии разработки. Последние результаты исследований в данной области, позволяющие повысить эффективность и удешевить масштабное производство БВБ, помогут значительно увеличить показатели данного производства.

Расчетная стоимость получаемой продукции бактериальной биомассы *B. megaterium* кормового назначения составляет 413 руб/кг, в то время как рыночная цена может составлять 826 руб/кг. Это позволяет достичь хороших технико-экономических показателей производства со сроком окупаемости 1,5 года.

Таким образом, замена коммерческого мясного пептона на ферментативный гидролизат белка подсолнечника, полученный с применением препарата Protex 7L, позволяет сократить себестоимость 1 кг кормовой добавки в 3 раза без оказания негативного влияния на рост культуры. Сверхпродукция витаминов группы В штаммом *B. megaterium* на среде, содержащей гидролизат белка подсолнечника, требует оптимизации условий культивирования.

Критерии авторства

А. В. Баурина – программное обеспечение

исследования, экспериментальная работа, обработка данных, написание исходного текста публикации, подготовка финального текста публикации и визуализация. Д. В. Баурин – концептуализация, методология, подготовка финального текста публикации, формальный анализ. И. В. Шакир – методология исследования, валидация, подготовка финального текста публикации, администрация проекта. В. И. Панфилов – концептуализация, ресурсы, общее руководство проектом, администрация проекта.

Конфликт интересов

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Contribution

A.V. Baurina provided software and visualization, performed experimental work, processed the data, drafted the manuscript, and proofread the final text. D.V. Baurin designed the research concept and methodology, prepared the final manuscript, and performed the formal analysis. I.V. Shakir developed the research methodology, validated the results, worked on the final text, and supervised the project. V.I. Panfilov helped to develop the concept, provided resources, performed the general project management, and supervised the project.

Conflict of interest

The authors declare that there is no conflict of interest regarding the publication of this article.

Список литературы

1. Bio-processing of agro-industrial wastes for production of food-grade enzymes: Progress and prospects / P. S. Panesar, R. Kaur, G. Singla [et al.] // Applied Food Biotechnology. – 2016. – Vol. 3, № 4. – P. 208–227. <https://doi.org/10.22037/afb.v3i4.13458>.
2. The role of the anabolic properties of plant-versus animal-based protein sources in supporting muscle mass maintenance: A critical review / I. Berrazaga, V. Micard, M. Gueugneau [et al.] // Nutrients. – 2019. – Vol. 11, № 8. <https://doi.org/10.3390/nu11081825>.
3. The environmental cost of protein food choices / J. Sabaté, K. Sranachoenpong, H. Harwatt [et al.] // Public Health Nutrition. – 2015. – Vol. 18, № 11. – P. 2067–2073. <https://doi.org/10.1017/S1368980014002377>.
4. Multi-objective optimization of solid/liquid extraction of total sunflower proteins from cold press meal / S. Albe Slabi, C. Mathe, M. Basselin [et al.] // Food Chemistry. – 2020. – Vol. 317. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126423>.
5. Белковый потенциал семян подсолнечника. Исследования процессов получения пищевых белков из подсолнечного шрота / М. Л. Доморощенко, Т. Ф. Демьяненко, И. В. Крылова [и др.] // Вестник Всероссийского научно-исследовательского института жиров. – 2020. – № 1–2. – С. 24–29.
6. Protein extracts from de-oiled sunflower cake: Structural, physico-chemical and functional properties after removal of phenolics / B. G. Subaşı, F. Casanova, E. Capanoglu [et al.] // Food Bioscience. – 2020. – Vol. 38. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100749>.
7. Optimization of sunflower albumin extraction from oleaginous meal and characterization of their structure and properties / A. S. Sara, C. Mathé, M. Basselin [et al.] // Food Hydrocolloids. – 2020. – Vol. 99. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105335>.
8. Green chemistry for the optimum technology of biological conversion of vegetable waste / A. S. Makarova, D. V. Baurin, M. G. Gordienko [et al.] // Sustainable Production and Consumption. – 2017. – Vol. 10. – P. 66–73. <https://doi.org/10.1016/j.spc.2016.12.003>.

9. The effectiveness of dietary sunflower meal and exogenous enzyme on growth, digestive enzymes, carcass traits, and blood chemistry of broilers / M. Alagawany, A. I. Attia, Z. A. Ibrahim [et al.] // Environmental Science and Pollution Research. – 2017. – Vol. 24, № 13. – P. 12319–12327. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-8934-4>.
10. Гавилей, Е. В. Влияние частичной замены соевого шрота подсолнечным концентратом в рационе цыплят-бройлеров на продуктивность и физиологическое состояние птицы / Е. В. Гавилей, С. Н. Панькова, О. А. Катеринич // Актуальные проблемы интенсивного развития животноводства. – 2020. – № 23–1. – С. 120–127.
11. Mustafayev, S. K. Organization of fodder production based on sunflower seed waste / S. K. Mustafayev, E. O. Smychagin // Advances in Engineering Research. – 2018. – Vol. 157. – P. 429–434.
12. Fang, H. Microbial production of vitamin B₁₂: a review and future perspectives / H. Fang, J. Kang, D. Zhang // Microbial Cell Factories. – 2017. – Vol. 16, № 1. <https://doi.org/10.1186/s12934-017-0631-y>.
13. Improved propionic acid and 5,6-dimethylbenzimidazole control strategy for vitamin B12 fermentation by *Propionibacterium freudenreichii* / P. Wang, Z. Zhang, Y. Jiao [et al.] // Journal of Biotechnology. – 2015. – Vol. 193. – P. 123–129. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2014.11.019>.
14. Vitamin B₁₂ biosynthesis over waste frying sunflower oil as a cost effective and renewable substrate / H. Hajfarajollah, B. Mokhtarani, H. Mortaheb [et al.] // Journal of Food Science and Technology. – 2015. – Vol. 52, № 6. – P. 3273–3282. <https://doi.org/10.1007/s13197-014-1383-x>.
15. Establishment of beet molasses as the fermentation substrate for industrial vitamin B₁₂ production by *Pseudomonas denitrificans* / K.-T. Li, W.-F. Peng, J. Zhou [et al.] // Journal of Chemical Technology and Biotechnology. – 2013. – Vol. 88, № 9. – P. 1730–1735. <https://doi.org/10.1002/jctb.4025>.
16. Microbial cell factories for the sustainable manufacturing of B vitamins / C. G. Acevedo-Rocha, L. S. Gronenberg, M. Mack [et al.] // Current Opinion in Biotechnology. – 2019. – Vol. 56. – P. 18–29. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2018.07.006>.
17. Conversion of potato industry waste into fodder yeast biomass / P. Patelski, J. Berlowska, M. Balcerek [et al.] // Processes. – 2020. – Vol. 8, № 4. <https://doi.org/10.3390/pr8040453>.
18. Sunflower protein enzymatic hydrolysates as a medium for vitamin B2 and B12 biosynthesis / D. V. Baurin, J. M. Epishkina, A. V. Baurina [et al.] // Chemical Engineering Transactions. – 2020. – Vol. 79. – P. 145–150. <https://doi.org/10.3303/CET2079025>.
19. Ultrasound pretreatment of sunflower protein: Impact on enzymolysis, ACE-inhibition activity, and structure characterization / M. Dabbour, R. He, B. Mintah [et al.] // Journal of Food Processing and Preservation. – 2020. – Vol. 44, № 4. <https://doi.org/10.1111/jfpp.14398>.
20. Localized enzymolysis and sonochemically modified sunflower protein: Physical, functional and structure attributes / M. Dabbour, J. Xiang, B. Mintah [et al.] // Ultrasonics Sonochemistry. – 2020. – Vol. 63. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.104957>.

References

1. Panesar PS, Kaur R, Singla G, Sangwan RS. Bio-processing of agro-industrial wastes for production of food-grade enzymes: Progress and prospects. Applied Food Biotechnology. 2016;3(4):208–227. <https://doi.org/10.22037/afb.v3i4.13458>.
2. Berrazaga I, Micard V, Gueugneau M, Walrand S. The role of the anabolic properties of plant-versus animal-based protein sources in supporting muscle mass maintenance: A critical review. Nutrients. 2019;11(8). <https://doi.org/10.3390/nu11081825>.
3. Sabaté J, Sranacharoenpong K, Harwatt H, Wien M, Soret S. The environmental cost of protein food choices. Public Health Nutrition. 2015;18(11):2067–2073. <https://doi.org/10.1017/S1368980014002377>.
4. Albe Slabi S, Mathe C, Basselin M, Framboisier X, Ndiaye M, Galet O, et al. Multi-objective optimization of solid/liquid extraction of total sunflower proteins from cold press meal. Food Chemistry. 2020;317. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2020.126423>.
5. Domoroshchenkova ML, Demjanenko TF, Krilova IV, Kamisheva IM. Protein opportunities of sunflower seeds. Research of processes of food protein production from sunflower oil meal. Vestnik of the All-Russia Scientific Research Institute of Fats. 2020;(1–2):24–29. (In Russ.).
6. Subaşı BG, Casanova F, Capanoglu E, Ajallouelian F, Sloth JJ, Mohammadifar MA. Protein extracts from de-oiled sunflower cake: Structural, physico-chemical and functional properties after removal of phenolics. Food Bioscience. 2020;38. <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2020.100749>.
7. Sara AS, Mathé C, Basselin M, Fournier F, Aymes A, Bianeis M, et al. Optimization of sunflower albumin extraction from oleaginous meal and characterization of their structure and properties. Food Hydrocolloids. 2020;99. <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105335>.
8. Makarova AS, Baurin DV, Gordienko MG, Kudryavtseva EI. Green chemistry for the optimum technology of biological conversion of vegetable waste. Sustainable Production and Consumption. 2017;10:66–73. <https://doi.org/10.1016/j.spc.2016.12.003>.

9. Alagawany M, Attia AI, Ibrahim ZA, Mahmoud RA, El-Sayed SA. The effectiveness of dietary sunflower meal and exogenous enzyme on growth, digestive enzymes, carcass traits, and blood chemistry of broilers. *Environmental Science and Pollution Research*. 2017;24(13):12319–12327. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-8934-4>.
10. Gaviley EV, Pan'kova SN, Katerinich OA. Vliyanie chastichnoy zameny soevogo shrota poldsolnechnym kontsentratom v ratsione tsyplyat-broylerov na produktivnost' i fiziologicheskoe sostoyanie ptitsy [Influence of partial replacement of soybean meal with sunflower concentrate in broiler chicken ration on productivity and physiological state of poultry]. *Aktual'nye problemy intensivnogo razvitiya zhivotnovodstva* [Actual problems of intensive development animal husbandry]. 2020;(23–1):120–127. (In Russ.).
11. Mustafayev SK, Smychagin EO. Organization of fodder production based on sunflower seed waste. *Advances in Engineering Research*. 2018;157:429–434.
12. Fang H, Kang J, Zhang D. Microbial production of vitamin B₁₂: a review and future perspectives. *Microbial Cell Factories*. 2017;16(1). <https://doi.org/10.1186/s12934-017-0631-y>.
13. Wang P, Zhang Z, Jiao Y, Liu S, Wang Y. Improved propionic acid and 5,6-dimethylbenzimidazole control strategy for vitamin B12 fermentation by *Propionibacterium freudenreichii*. *Journal of Biotechnology*. 2015;193:123–129. <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2014.11.019>.
14. Hajfarajollah H, Mokhtarani B, Mortaheb H, Afaghi A. Vitamin B₁₂ biosynthesis over waste frying sunflower oil as a cost effective and renewable substrate. *Journal of Food Science and Technology*. 2015;52(6):3273–3282. <https://doi.org/10.1007/s13197-014-1383-x>.
15. Li K-T, Peng W-F, Zhou J, Wei S-J, Cheng X. Establishment of beet molasses as the fermentation substrate for industrial vitamin B₁₂ production by *Pseudomonas denitrificans*. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*. 2013;88(9):1730–1735. <https://doi.org/10.1002/jctb.4025>.
16. Acevedo-Rocha CG, Gronenberg LS, Mack M, Commichau FM, Genee HJ. Microbial cell factories for the sustainable manufacturing of B vitamins. *Current Opinion in Biotechnology*. 2019;56:18–29. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2018.07.006>.
17. Patelski P, Berlowska J, Balcerek M, Dziekonska-Kubczak U, Pielech-Przybylska K, Dygas D, et al. Conversion of potato industry waste into fodder yeast biomass. *Processes*. 2020;8(4). <https://doi.org/10.3390/pr8040453>.
18. Baurin DV, Epishkina JM, Baurina AV, Shakir IV, Panfilov VI. Sunflower protein enzymatic hydrolysates as a medium for vitamin B2 and B12 biosynthesis. *Chemical Engineering Transactions*. 2020;79:145–150. <https://doi.org/10.3303/CET2079025>.
19. Dabbour M, He R, Mintah B, Golly MK, Ma H. Ultrasound pretreatment of sunflower protein: Impact on enzymolysis, ACE-inhibition activity, and structure characterization. *Journal of Food Processing and Preservation*. 2020;44(4). <https://doi.org/10.1111/jfpp.14398>.
20. Dabbour M, Xiang J, Mintah B, He R, Jiang H, Ma H. Localized enzymolysis and sonochemically modified sunflower protein: Physical, functional and structure attributes. *Ultrasonics Sonochemistry*. 2020;63. <https://doi.org/10.1016/j.ultsonch.2019.104957>.