

А. П. Неустроев
A. P. Neustroev
anton_neustroev@bk.ru
Д. С. Шестакова
D. S. Shestakova
С. Л. Тихонов
S. L. Tichonov
tichonov75@bk.ru

ФГБОУ ВО «Уральский государственный
экономический университет», г. Екатеринбург
Ural State University of Economics», Yekaterinburg

**РАЗРАБОТКА ТЕХНОЛОГИИ ПОЛУЧЕНИЯ МИКРОБНОГО БЕЛКА НА ОСНОВЕ
ДРОЖЖЕВЫХ ГРИБОВ *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*
CREATION OF TECHNOLOGY FOR MICROBIAL PROTEIN OBTAINING ON THE
BASIS OF THE YEAST FUNGI *SACCHAROMYCES CEREVISIAE***

Аннотация. Микробная биомасса может быть использована для производства продуктов питания и кормов для животных благодаря высокому содержанию белков. В результате обзора технологии получения микробного белка за основу субстрата были выбраны дрожжевые грибы *Saccharomyces cerevisiae*. Разработана технологическая схема по получению микробного белка из дрожжевых грибов *Saccharomyces cerevisiae*. При разработке технологической схемы учитывались ранее разработанные технологии получения микробного белка. В результате проведенного анализа литературных данных для получения высокой массовой доли белка были использованы протеолитические ферменты протосубтилин, папаин и бромелайн. Высокое содержание белка в полученном белковом препарате отмечается при использовании фермента бромелайн.

Annotation. Microbial proteins, that is, single-celled proteins or microbial biomass, can be grown for the production of food and animal feed due to the high level of protein. As a result of a review of the technology for obtaining microbial protein, the yeast fungi *Saccharomyces cerevisiae* were chosen as the basis for the substrate. The technological scheme for obtaining microbial protein from yeast fungi *Saccharomyces cerevisiae* was developed. At development of the technological scheme previously developed technologies of reception of microbial protein were taken into account. As a result of the analysis of literature data, proteolytic enzymes protosubtilin, papain and bromelain were used to obtain a high mass fraction of protein. The high protein content in the obtained protein preparation is observed when using the bromelain enzyme.

Ключевые слова: белок, технология, производство, ферментативный гидролиз, *Saccharomyces cerevisiae*.

Keywords: protein, technology, production, enzymatic hydrolysis, *Saccharomyces cerevisiae*.

Введение. Проблема продовольствия, связанная с недостатком биологически полноценных продуктов, со временем не теряет своей остроты, но является одной из важнейших. Наиболее верное решение данной проблемы лежит в использовании качественно новых методов производства пищи, а также внесением новых сбалансированных источников белка, одним из которых является белок микроорганизмов.

Микробный белок, синтезируемый дрожжами, по степени усвояемости и содержанию аминокислот, превосходит животный белок [3]. Микробные белки представляют собой устойчивую и питательную альтернативу традиционным белкам животного и растительного происхождения. Было продемонстрировано, что различные штаммы генерируют биомассу используя самые разные субстраты, от органических отходов (например, банановой кожуры) до газов (например, метана) [2].

Вид дрожжей, используемых для извлечения белка, определяется продуцирующим штаммом гриба и средой, в которой он выращен. В качестве штамма-продуцента могут использоваться виды родов *Candida*, *Saccharomyces*, *Hansenula*, *Torulopsis* и множество других [3].

Технологии по получению белка на данный момент имеют большое количество разновидностей, но до конца так и не изучены. Технология получения белка из биомассы дрожжей заключалась в том, что использовалась денуклеинизированная биомасса хлебопекарных дрожжей. В результате анализа было выяснено, что оптимальная кратность отрывки биомассы дрожжей от диаммонийфосфата равна 5 раз. После данных процессов получена промытая денуклеинизированная биомасса, которая содержит 53,29% сырого протеина в расчёте на сухое вещество, далее её можно использовать для того, чтобы извлечь белковый изолят методом кислотной экстракции. После чего для достижения нужной рН среды были взяты серная и фосфорная кислоты. Данный метод можно считать не всегда оптимальным, так как возможно выделение белка с помощью ферментов [1].

Разработан способ получения белка из биомассы дрожжей, процесс получения происходил при культивировании микроорганизмов на питательной среде (содержится метанол). Готовится питательная среда, для этого в воде растворяют углеродсодержащий и азотсодержащий компоненты, минеральные соли. После чего вносится посевная культура дрожжей. Данный способ отличается тем, что культивирование происходит в ферментере, который состоит из перемешивающего устройства, датчиков температуры и рН – среды, измерения давления и кислорода [4].

Использование субстрата в качестве дрожжей нашло свое применение в использовании нового штамма дрожжей – *Metschnikowiapulcherrima* ВКПМ У-4340. При этом выделяются дрожжевые клетки с поверхности дикорастущих шишек хмеля, что обеспечивает прирост биомассы при получении микробного белка. Для размножения необходимы следующие условия: температура 28–30 °С на пивном сусле, сусло-агар, среда Сабуро и гидролизат полисахаридов [5].

Согласно вышеприведенным данным наиболее перспективным источником пищевого белка является дрожжевая биомасса, что объясняется полноценностью белковых веществ, аминокислотный состав которых приближается к животному белку, а также безопасностью и абсолютным отсутствием токсичности дрожжей.

В связи с вышеизложенным, цель работы состоит в разработке технологии получения микробного белка из дрожжей вида *Saccharomyces cerevisiae*.

Объекты исследований – дрожжи вида *Saccharomyces cerevisiae*; белок, полученный из дрожжей. Количество белка определяли в белковом препарате методом Кьельдаля по ГОСТ 26889-86. Продукты пищевые и вкусовые.

Результаты исследований. Приготовление рабочего раствора в виде 10% суспензии дрожжей. Для большего выхода микробного белка были взяты 100 грамм прессованных дрожжей и разбавлены 500 мл воды. Активация нуклеаз хлоридом натрия 0,1н при условии кислотности не ниже 4,5 рН и температуре 40°С производилась в промежутке времени 60 минут в термостате. Введение хлорида натрия способствует расщеплению нуклеиновых кислот и получению белкового препарата. После процесса расщепления нуклеаз раствор центрифугировался в течении 3 минут при 3000 оборотов в минуту. В результате центрифугирования отделялась культуральная жидкость и белковый продукт. Отделялась культуральная жидкость и вводились ферменты протосубтилин, папаин и бромелайн в соотношении от 2–4% к получившейся массе белкового препарата. Субстанция оставалась в термостате при температуре 40°С. в течении 24 ч. После этого вынимался микробный белок и направлялся на сушку в сушильный шкаф при температуре 60–65°С. После процесса сушки измельчался микробный белок в порошкообразное состояние.

Технологическая схема получения микробного белка на основе дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* представлена на рис. 1.

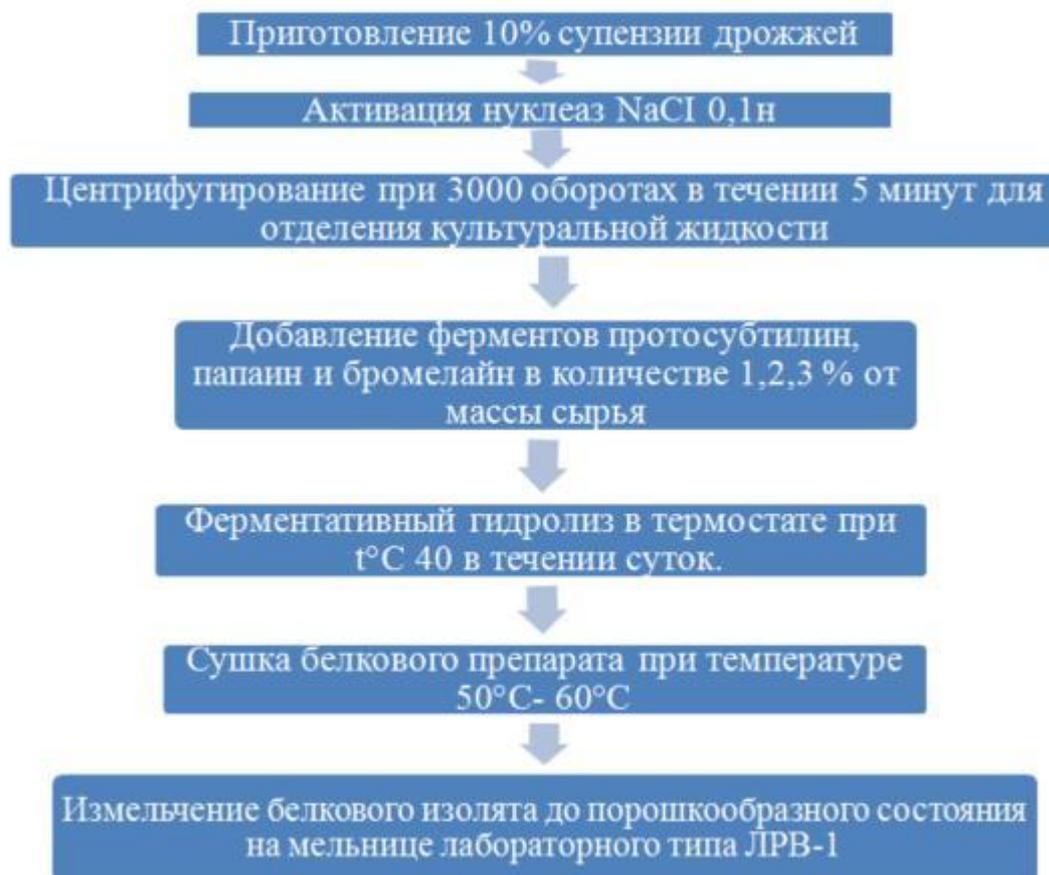


Рис. 1. Получение микробного белка на основе дрожжевых грибов *Saccharomyces cerevisiae*

В результате проведения ферментативного гидролиза дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* ферментами проведен анализ по содержанию белка в высушенном микробном препарате. (таблица 1).

Таблица 1. Массовая доля белка в белковом препарате в зависимости от используемого фермента

Показатель	Наименование фермента								
	Протосубтилин, % от массы дрожжей			Папаин, % от массы дрожжей			Бромелайн, % от массы дрожжей		
	1	2	3	1	2	3	1	2	3
Массовая доля белка, %	40,39	41,2	41,8	38,7	39,0	39,5	42,3	43,8	45,6

Данные исследований свидетельствуют о том, что более высокий белка (45,6 %) отмечается при гидролизе дрожжей ферментом бромелайном в процентном соотношении 3%. При наименьшем соотношении наблюдается низкий выход белка. Увеличение массовой доли бромелайном обуславливается наибольшим диапазоном действия рН из всех выбранных ферментов – 4,5 до 9,0 и повышенной протеолитической активности.

Таким образом, получение микробного белка согласно разработанной схеме основано на внесении протеолитических ферментов для наибольшего выхода сырого протеина. Введенные ферменты обладают высокой каталитической активностью, способной разрушить клеточные стенки и обеспечить выход белка. В дальнейшем планируются исследования по аминокислотному составу и выходу белка с различными технологическими режимами.

Список литературы.

1. Гапоян А. Г, Красноштанова А. А. Выделение белковых изолятов из дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* в условиях комплексной переработки // Успехи в химии и химической технологии. 2020. Т. 34, № 11 (234). С 10–12.

2. Industrial production of microbial protein products / M. Banks, R. Johnson, L. Giver, G. Bryant, M. Guo // Current Opinion in Biotechnology. 2022. Vol. 75. P. 102707. <https://doi.org/10.1016/j.copbio.2022.102707>.

3. Никанова Д. А., Логвинова Т. И., Артемьева О. А. Обзор состояния рынка отходов вторичной переработки семян подсолнечника // Актуальные проблемы гуманитарных и естественных наук. 2016. № 12-1. С. 62–66.

4. Патент № 2731517С1 Российская Федерация, МПК А23К10/12. Способ получения биомассы дрожжей для кормового белкового продукта : № 2020105719 ; заявл.06.02.2020 ; опубл. 03.09.2020 / Берков А. Д., Коротовских А. П., Попов А. Ю., Соломко П. И., Шулятьев Е. В. URL: https://yandex.ru/patents/doc/RU2731517C1_20200903?ysclid=lk6lyuja6z72867118.

5. Патент № 2707046С1 Российская Федерация, МПК С12N 7/06 (2006.01), С12N 1/6 (2006.01). Штамм дрожжей *Melschnikowiapulcherrima* – продуцент микробного белка и спирта : № 2018138154 ; заявл. 29.10.2018 ; опубл. 21.11.2019 / Цуткин Б. Г., Хозиев А. М., Цуткиева В. Б., Петрукович А. Г., Ханикаев Д. Н., Бутхудзе В. Д. ; заявитель Горский гос. аграр. ун-т. URL: https://yandex.ru/patents/doc/RU2707046C1_20191121?ysclid=lk6m175oir460746844.