Практическое занятие.

Изучение биотехнологии производства кормового белка, аминокислот, витаминов, ферментов и их применение

***Цель занятия*:** ознакомиться с биотехнологическими способами получения различных кормовых добавок (аминокислот, витаминов, ферментов).

Задачи:

1) изучить основные биотехнологические принципы получения кормового белка и кормовых добавок;

2) выполнить практические задания для закрепления теоретического материала .

Методические указания.

Микробиологическое производство кормового белка

При дефиците белка в рационе в организме животных развиваются глубокие негативные изменения: отрицательный азотистый баланс, гипопротеинемии, нарушения коллоидно-осмотического и водно-солевого обмена, анемии различной формы, нарушения со стороны нервной, эндокринной и сердечно-сосудистой системы, сдвиги обмена веществ, остановка роста, истощение и т.д. Особенно тяжелые нарушения развиваются в молодом возрасте. Весьма опасно не только полное отсутствие белка в пище, но и недостаточное поступление его в организм или поступление некачественного белка. Белок корма должен содержать все аминокислоты, особенно незаменимые, быть по составу близок аминокислотному составу белков организма и легко перевариваться в желудочно-кишечном тракте.

Недостаток кормового белка в масштабах планеты по данным ФАО ООН оценивается примерно в 30 млн т в год. Коренным образом изменить эту ситуацию возможно лишь биотехнологическим путем. Причем, продуцентами кормового белка могут быть бактерии, дрожжи, микроскопические водоросли, микро- и макромицеты.

Преимущества производства биомассы с помощью микробного синтеза (перед другими источниками белка): 1) высокая скорость накопления биомассы, которая в 500 - 5000 раз выше, чем у растений или животных; 2) микробные клетки накапливают большое количество белка (дрожжи – до 60 %, бактерии – до 75 % по массе); 3) в производстве микробного белка отсутствует многостадийность; 4) процесс биосинтеза протекает в мягких условиях при температуре 30 - 45ºС, pH 3 - 6 и давлении ≈ 0,1 МПа;

5) процесс менее трудоемок по сравнению с получением сельскохозяйственной продукции и органическим синтезом белков.

Сырьевые источники для синтеза микробного белка весьма разнообразны и легко доступны. Для получения микробного белка необходим богатый углеродом, но дешевый субстрат (парафины нефти, метанол, этанол, растительная биомасса, молочная сыворотка и др.).

Принципиальная технологическая схема выращивания кормовой биомассы

Чистую культуру в *log*-стадии переносят в малый посевной аппарат (500 л) с пита- тельной средой, pH которой доводится аммиачной водой или известковым молоком до 5,5 - 5,8. Сначала в аппарат подают около 40 л среды, разбавляют её в 4 - 4,5 раза стерильной водой и при интенсивной аэрации добавляют остальное количество питательной среды (80 - 100 л), pH среды – 4,5 - 5,5. Из качалочных колб вносят микробную суспензию объемом 1,5 - 2 л и производят культивирование до накопления в среде 3,5 - 4,0 г клеток/л по абсолютно сухому веществ (АСВ). Обычно для этого требуется 15 - 18 ч.

Суспензия из малого посевного аппарата подается в аппарат объемом 4 - 5 $м^3$, пред- варительно заполненный питательной средой (≈ 200 л) и стерильной водой (1,2 - 1,5 $м^3$), включается аэрация и при постоянном доливе (70 - 75 л/ч) питательной среды и добавления аммиачной воды для поддержания заданного pH проводится культивирование 10 - 12 ч.

Выращивание засевной культуры проводится в ферментаторе объемом 15 - 20 $м^3$. Аппарат на 10 % по объему заполняется стерильной или кипяченой водой, туда же вводится около 0,5 $м^3$ питательной среды и полностью перекачивается все содержимое предыдущего аппарата (2,5 - 2,7 $м^3$). Выращивание посевного материала без отбора суспензии продолжается 8 - 9 часов при интенсивной аэрации и постоянном доливе питательной среды (170 - 200 л/ч) до накопления в ферментере биомассы в количестве 4 - 5 г АСВ/л. После этого засевную культуру начинают отбирать на основное произ- водство в количестве 1,3 - 1,7 $м^3$/ч при одновременном доливе питательной среды.

Процесс ферментации длится от 5 до 10 суток, а затем цикл приготовления посевного материала возобновляется. К подготовительным стадиям производства относится приготовление растворов питательных солей и микроэлементов, необходимых для нормального развития микроорганизмов. Этот участок имеет свою технологическую схему. Минеральные компоненты группируют в два раствора, которые параллельно подаются в основной ферментатор: раствор всех микроэлементов (N, P, K), необходимое количество которых составляет 5 - 70 г/л; раствор микроэлементов (Mg, Mn, Fe, Zn и др.), концентрации которых не превышают 5 - 10 мг/л.

Технологические потоки из всех подготовительных отделений (компримирование воздуха, хранение и подготовка сырья, получение засевной

культуры, приготовление растворов питательных солей и микроэлементов, технологическая вода, аммиачная вода, стерильная культуральная жидкость) поступают на главную стадию производства – *стадию ферментации.* Основным аппаратом в этом отделении является ферментатор – аппарат полного смешения по жидкой фазе, обеспечивающий рост и развитие популяций микроорганизмов в объеме жидкой фазы; транспорт питательных веществ к клеткам микроорганизмов; отвод от микробных клеток продуктов их обмена; отвод из среды тепла.

Затем следуют другие этапы технологической схемы получения кормовой биомассы:

– *Сгущение суспензии микроорганизмов.* При этом концентрация биомассы повышается до 12 - 16 % АСВ. Для этого используют сепараторы, а также флокуляцию, коагуляцию, флотацию или декантацию.

– *Термообработка суспензии.* При нагревании микроорганизмов до температуры 75 - 85 ºС в течение 10 - 40 мин происходит гибель штамма-продуцента и практически всей сопутствующей микрофлоры.

– *Концентрирование суспензии.* Проводят в отделении выпаривания до концентрации 23 - 25 % АСВ. Для этого используется трехкорпусная вакуум-выпарная установка: I корпус – 90 ºС, II – 75 и III – 60 ºС.

– *Сушка.* В этом отделении происходит образование готового продукта с влажно- стью ≈ 10 % (по массе). Для этого используются конвективные сушилки (распылительные, кипящего слоя, ленточные и барабанные).

– *Грануляция и сушка.* Обычно сухая биомасса, содержащая 8 - 10 % (по массе) влаги представляет собой готовый продукт и после упаковки направляется на склад к потребителю. Если продукт необходимо получить в виде гранул, то сухая и влажная (после выпарки) биомасса в соотношении 1:1 поступает в гранулятор. При этом влажная биомасса налипает на сухие частицы и вся масса влажностью 45 - 50 % движется в аппарате, формируя гранулы, которые затем подаются в сушилку кипящего слоя. Гранулы подсушиваются до остаточной влажности 8 - 10 % (по массе) горячим воздухом или топочными газами с температурой 260 - 300 ºС;

– *Фасовка и упаковка готового продукта.* Сухая биомасса поступает в приемный бункер и фасуется в бумажные мешки с клапаном массой 25 - 30 кг. Эти мешки укладываются на специальные поддоны, которые отвозят их на склад или отгружают потребителю.

Производство аминокислот

Составные части белка – аминокислоты – человек и высшие животные могут синтезировать лишь ограниченно, некоторые из них являются незаменимыми, т.е. они или не синтезируются в организме или синтезируются с недостаточной скоро-

стью.

К незаменимым аминокислотам относятся - *валин, лизин, лейцин, изолейцин, метионин, треонин, триптофан, фенилаланин.*

Аминокислоты можно получать следующими способами:

1) гидролизом природного белоксодержащего сырья;
2) химическим синтезом;
3) микробиологическим синтезом;
4) химико-микробиологическим методом.

Аминокислоты в большом количестве используются в пищевой промышленности, являются вкусовыми добавками, дезодорантами пищевых продуктов, пищевыми красителями, консервирующими агентами и т.д.

Аминокислоты применяются в животноводстве для сбалансирования кормов. При добавлении 2-4 дефицитных аминокислот к 1т комбикорма общий расход кормов уменьшается на 10-20%, а выход продукции увеличивается на 20%. Аминокислоты используются в растениеводстве (могут ускорять или замедлять рост растений, используются в качестве средств защиты).

Задание 1. Изучить и записать содержание незаменимых аминокислот в различных белках:

Таблица 1- Содержание незаменимых аминокислот в различных белках (в г на 100г белка)

Аминокислоты	**Молоко от коровы**	**Эталон ФАО**	**Соя**	**Горох**	**Рис**	**Пшеница**	**Кукуруза**	**Ячмень**
Лизин	6,6	4,2	6,6	6,5	3,5	2,6	2,5	3,2
Триптофан	1,4	1,4	1,3	0,8	1,3	1,3	0,6	1,2
Метионин	2,4	2,2	1,4	1,4	2,9	1,7	2,1	1,7
Треонин	4,6	2,8	3,8	3,8	3,5	2,6	3,2	2,9
Валин	6,9	4,2	5,4	4,5	6,5	4,6	4,4	5,4
Лейцин	9,9	4,8	7,9	6,5	8,0	6,9	11,2	7,2
Изолейцин	6,6	4,2	5,3	5,0	4,6	3,4	2,7	3,5
Фенилаланин	4,9	2,8	5,1	4,8	5,2	4,3	4,1	5,1

Задание 2. Изучить и записать содержание незаменимых аминокислот в белках некоторых микроорганизмов:

Таблица 2 - Содержание незаменимых аминокислот в белках некоторых микроорганизмов (на 100 г белка)

Аминокислота	**Микроорганизмы**				
	дрожжи	**водоросли**	**бактерии**	**грибы**	**актиномицеты**
Валин	5-7	5-7	4-6	5-7	5,5
Лейцин	6-9	6-10	5-11	6-9	7,7
Изолейцин	4-6	4-7	5-7	3-6	5,3
Треонин	4-6	3-6	4-5	3-6	4

Метионин	1-3	1,5-2,5	2-3	2,5	1,3
Лизин	6-8	5-10	6-7	3-7	6,4
Фенилаланин	3-5	3-5	3-4	3-6	5
Триптофан	1-1,5	до 2	1,5	1,5-2	1,4

Задание 3. Зарисовать схему используемых в животноводстве средств:



Рисунок 1 – Средства, используемые в животноводстве

Задание 4. Изучить важнейшие ферментные препараты, применяемые в животноводстве:

Таблица 3 - Важнейшие ферментные препараты, применяемые в животноводстве

Препарат	Область применения
Амилосубтилин Г3х	Добавление в кормовые рационы сельскохозяйственных животных и птиц; получение ферментативных гидролизатов; лечение и профилактика желудочных, паразитарных заболеваний
Протосубтилин Г3х	Добавление в кормовые рационы сельскохозяйственных животных, птиц и рыбы; получение ферментативных гидролизатов; лечение и профилактика желудочных и паразитарных заболеваний
Глюкаваморин Пх	Добавление в кормовые рационы телят и ягнят, свиней, крупного рогатого скота; при силосовании картофеля, бобовых трав
Пектаваморин Пх	Добавление в кормовые рационы сельскохозяйственных животных и птиц; при силосовании картофеля, бобовых трав
Пектофоетидин Г3х	Добавление в кормовые рационы сельскохозяйственных животных и птиц; гидролиз БВК, дрожжей и растительных отходов; силосование бобовых трав;
Амилоризин Пх	Добавление в кормовые рационы ягнят и при откорме свиней
Дрожжелитин Г3х	Получение ферментативных гидролизатов
Целловиридин Г3х	Добавление в кормовые рационы крупного рогатого скота и птиц; гидролиз растительных отходов; силосование бобовых трав
Гликозидаза Г3х	Добавление в кормовые рационы сельскохозяйственных животных и птиц; получение ферментативных гидролизатов
Лизосубтилин Г10х	Получение ферментативных гидролизатов; лечение и профилактика паразитарных заболеваний крупного рогатого скота
Протезим Г3х	Добавление в кормовые рационы свиней и птиц
Лизоцеллюлозин Г10х	Гидролиз дрожжей и растительных отходов; добавление в кормовые рационы птиц
Лизогризеин Г10х	Гидролиз дрожжей и растительных отходов
Мальтаваморин Г10х	Гидролиз растительных отходов
Целлолигнорин Пх	Гидролиз растительных отходов, силосование бобовых трав
Целлокандин Г3х	Гидролиз растительных отходов, силосование бобовых трав
Лизоцим Г3х	Добавление в кормовые рационы сельскохозяйственных животных и птиц; лечение и профилактика паразитарных заболеваний

Примечание. Буква Г означает, что препарат получен при глубинном выращивании микро- организмов, П - получен из поверхностной культуры микроскопических грибов, 2- показывает, что это конц. сироп, 3 — сухой ферментный препарат, 10- очищенный фермент. препарат, Пх — высушенная поверхностная культура грибов.

Контрольные вопросы

1. Из какого сырья возможно получение кормового белка?
2. Основные принципы производства белковой биомассы.
3.Аминокислоты, принципы получения.
4. Использование аминокислот в пищевой промышленности и животноводстве.
5.Применение витаминов и гормонов в животноводстве. Способы получения.
6.Перспективы применения липидов и ферментов в сельскохозяйственном производстве.