

(19)



**Евразийское  
патентное  
ведомство**

(11) **033616**

(13) **B1**

**(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОМУ ПАТЕНТУ**

**(45)** Дата публикации и выдачи патента  
**2019.11.11**

**(21)** Номер заявки  
**201700441**

**(22)** Дата подачи заявки  
**2017.09.20**

**(51)** Int. Cl. **C12N 1/16** (2006.01)  
**A23K 10/16** (2016.01)  
**A61K 36/06** (2006.01)  
**C12R 1/84** (2006.01)

---

**(54) СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ ВЫСОКОБЕЛКОВОЙ БИОМАССЫ ДРОЖЖЕЙ**

---

**(43)** 2019.03.29

**(96)** 2017000087 (RU) 2017.09.20

**(71)(73)** Заявитель и патентовладелец:  
**ООО "ПРОТЕИНОВЫЕ  
КОРМОВЫЕ Биотехнологии  
Исследования" (RU)**

**(72)** Изобретатель:  
**Герман Людмила Сергеевна,  
Сенаторова Валентина Николаевна,  
Вакар Любовь Львовна, Петрищева  
Ольга Аркадьевна, Большаков  
Евгений Александрович (RU)**

**(74)** Представитель:  
**Пустовалова М.Л., Котлов Д.В.,  
Черняев М.А., Яремчук А.А. (RU)**

**(56)** RU-C2-2613493  
RU-C2-2391859

**ГЕРМАН Людмила Сергеевна.**  
Комплексная технология переработки  
некондиционного зерна как исходная стадия  
биотехнологических производств. Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата технических наук. М., 2012, с.1-20

**TESFAW Asmamaw et al. Co-culture: A great  
promising method in single cell protein production.**  
Biotechnology and Molecular Biology Reviews, 2014,  
Vol. 9(2), pp. 12-20

**(57)** Изобретение относится к биотехнологии, сельскому хозяйству, в частности к производству дрожжей из гидролизатов, получаемых при переработке растительного сырья. Сущность изобретения заключается в том, что с целью получения высокобелковой биомассы дрожжей с высоким содержанием сырого протеина, незаменимых аминокислот, с одновременной глубокой комплексной переработкой крахмалсодержащего зернового сырья и упрощением технологической схемы проводят дробление, высокотемпературный одностадийный ферментативный гидролиз крахмалсодержащего зернового сырья без отделения зерновых оболочек с последующим отделением зерновых оболочек, приготовление на основе ферментализата (гидролизата) среды для культивирования и последовательное выращивание двух штаммов дрожжей: *Pichia guilliermondii* ВКПМ Y-248 и *Pichia guilliermondii* ВКПМ Y-1858. Изобретение также обеспечивает получение кормового, фармацевтического или косметического продукта, содержащего полученную высокобелковую биомассу дрожжей или ее автолизаты, а также продукта кормового и/или ветеринарного назначения - пищевых волокон на основе зерновых оболочек.

**033616 B1**

**033616 B1**

### Область техники

Изобретение относится к биотехнологии, сельскому хозяйству, в частности к технологиям производства кормовых дрожжей из гидролизатов, получаемых при переработке растительного сырья. Получаемая по данному способу высокобелковая биомасса дрожжей на основе крахмалсодержащего зернового сырья может быть использована в качестве фармацевтического, косметического продукта, а также в комбикормовой промышленности в качестве кормового продукта и белково-витаминной добавки в рецептуре комбикормов для различных видов сельскохозяйственных животных и аквакультур (свиней, птиц, крупного рогатого скота, молодняка сельскохозяйственных животных, ценных пород рыбы) в качестве белковой составляющей в качестве заменителя рыбной муки.

### Уровень техники

Вопрос обеспечения кормами животноводческих, птицеводческих и рыбных хозяйств является основным и определяющим при формировании структуры сельскохозяйственного животноводства и ценовой политики на мясную и рыбную продукцию.

В настоящее время мировой дефицит рыбной муки составляет 6 млн т/год и постоянно возрастает. В качестве заменителя рыбной муки в кормопроизводстве используют генно-модифицированные продукты - соевую муку, соевый шрот и соевый изолят. Основным путем снижения этого дефицита является производство высокобелковой биомассы с помощью микробиологического синтеза, в том числе с использованием в качестве сырья зерна, такого как пшеница, тритикале, рожь, ячмень, отходов мукомольного производства.

В то же время, во всех странах имеются и постоянно накапливаются большие запасы малоиспользуемых или вообще неиспользуемых отходов сельского хозяйства, растениеводства, животноводства, зерноперерабатывающих и других производств, которые по причине своих физико-механических свойств, а также из-за того, что они характеризуются низкой кормовой ценностью из-за наличия трудно гидролизующих полисахаридов и невысокого содержания усваиваемого белка, не могут быть использованы на корм для сельскохозяйственных животных, однако после соответствующей обработки могут приобретать кормовые свойства, в 1,5-3,0 раза превосходящие фуражное зерно хорошего качества, а также обладают рядом существенных и необходимых свойств.

Поэтому проблема поиска новых и альтернативных способов получения кормовых продуктов, повышения качества при снижении затрат на их производство актуальна и является одной из основных для агропромышленного сектора экономики.

Недостатком зернового сырья для кормления сельскохозяйственных животных является низкая доступность содержащихся в нем питательных элементов, высокий уровень клетчатки, плохая перевариваемость, недостаток многих незаменимых аминокислот и витаминов, что делает невозможным применение его для откорма сельскохозяйственных животных, рыб.

Кормовой дрожжевой белок добавляют в рацион питания животных как белково-витаминную добавку. По общей питательности 1 кг кормовых дрожжей содержит 1,03-1,16 кормовых единиц (единица измерения питательности сельскохозяйственных кормов, принятая в России; 1 кормовая единица соответствует питательности 1 кг среднего сухого овса посевного *Avena sativa*) и особенно много перевариваемого (истинного) белка: 380-480 г. По аминокислотному составу и содержанию сырого протеина в продукте кормовые дрожжи максимально близки к рыбной муке (белок животного происхождения), соевому и подсолнечному шротам (белки растительного происхождения). Однако протеин животного белка усваивается животными намного лучше, чем протеин растительного белка.

Поэтому потребность в кормовых дрожжах постоянно увеличивается и способы получения кормовых дрожжей являются одним из направлений крупного промышленного производства кормового белка и витаминов.

Одним из направлений получения кормовых дрожжей являются технологии получения дрожжевой биомассы, полученные на гидролизных и целлюлозных предприятиях и использующие для этой цели углеводы, содержащиеся в гидролизатах и сульфитных щелоках.

Из уровня техники известны способы получения кормовых дрожжей из зернового сырья, включающие гидролиз сырья растительного происхождения минеральными кислотами, с последующим выращиванием культур дрожжей - продуцентов белка (RU 2113490, EP 0169068, RU 2560987). Общим недостатком этих способов является отсутствие фракционирования размолотой зерновой массы, из-за чего готовый продукт имеет высокую концентрацию целлюлозы и низкую концентрацию сырого протеина.

Известны способы получения белковой биомассы с помощью культивирования дрожжей *Saccharomyces cerevisiae* (RU 2562146, WO 2009129320, RU 2220590), совместной инкубации молочнокислых и пропионовокислых бактерий (RU 2391859, RU 2243678), а также использующие в качестве штаммов-продуцентов дрожжи рода *Candida* (RU 2146097, RU 2041946, RU 2042331). Общим недостатком этих способов является использование культур микроорганизмов, не позволяющих получить высокий (более 60%) уровень накопления внутриклеточных азотистых соединений (сырого протеина).

По совокупности существенных признаков наиболее близким аналогом-прототипом является "Способ получения белково-витаминной добавки из крахмалсодержащего зернового сырья" (RU 2613493), в котором зерновое сырье подвергается фракционированию с последующим двухстадийным ферментатив-

ным гидролизом крахмала до глюкозы и последовательным культивированием трех различных штаммов дрожжей - продуцентов белка рода *Hansenula*: *Hansenula polymorpha* Y-314, *Hansenula jadinii* ВКПМ Y-797, *Hansenula petersonii* ВКПМ Y-1012. Полученный таким способом готовый продукт - белково-витаминная добавка содержит до 65% сырого протеина, витамины группы В, аминокислоты (лизин - 3,6, метионин - 1,1, валин - 1,0), содержание клетчатки до 1%.

Недостатком данного способа является то, что культура *Hansenula polymorpha* Y-314 использует в качестве источника углерода только глюкозу. Из литературных данных известно, что глюкоза поступает в клетку уже в виде глюкозо-6-фосфата (Г6Ф), так как фосфорилируется ферментами, прикрепленными к наружной части клеточной стенки. Далее 1 моль Г6Ф в клетке делится пополам на два пути синтеза: пентозо-фосфатный (синтез нуклеиновых кислот) и цикл Кребса (синтез аминокислот, то есть белков). Исходя из этого, при использовании глюкозы как единственного источника углеводов невозможно получить более 50% внутриклеточного истинного белка (Скурида Г.И. Расчет минимальных затрат субстратов на энергетический обмен у микроорганизмов. / Скурида Г.И., Миронов В.А., Дроздов-Тихомиров Л.Н.//Микробиология. Т.53. - В.2. - 1984. - с.187-193).

Если же в качестве источника углерода используются ди-, три- и тетрасахара, поступающие в дрожжевую клетку путем диффузии и активным транспортом, то их гидролиз до глюкозы происходит внутри клетки прикрепленными к внутренней мембране ферментами. Фосфорилирование полученной глюкозы тоже происходит внутри клетки. При этом один моль Г6Ф также делится пополам на два пути синтеза: пентозо-фосфатный и цикл Кребса, а второй моль полностью поступает в цикл Кребса. Теоретически максимально возможный процент получения внутриклеточного белка в этом случае возрастает до 75%.

### Раскрытие изобретения

Задача, решаемая изобретением, направлена на получение высокобелковой биомассы дрожжей с высоким содержанием сырого протеина и незаменимых аминокислот с одновременной глубокой комплексной переработкой крахмалсодержащего зернового сырья, упрощением технологической схемы.

Поставленная задача решается путем разработки способа получения высокобелковой биомассы дрожжей на среде для культивирования, полученной из крахмалсодержащего зернового сырья, включающего следующие стадии:

- а) дробление крахмалсодержащего зернового сырья;
- б) высокотемпературный одностадийный ферментативный гидролиз крахмалсодержащего зернового сырья, полученного на стадии а), без отделения зерновых оболочек при температуре не менее 90°C с получением ферментолизата;
- с) отделение зерновых оболочек от ферментолизата;
- д) обработка зерновых оболочек, полученных на стадии с), раствором перекиси водорода при температуре не более 75°C, отжим с получением стока;
- е) приготовление среды для культивирования на основе ферментолизата, полученного на стадии с), с добавлением минеральных солей, в том числе кобальта (II), а также тиамин;
- ф) последовательное выращивание двух штаммов дрожжей, *Pichia guilliermondii* ВКПМ Y-248 и *Pichia guilliermondii* ВКПМ Y-1858, а именно:
  - 1) выращивание штамма *Pichia guilliermondii* ВКПМ Y-248 на среде для культивирования, полученной на стадии е);
  - 2) отделение биомассы штамма *Pichia guilliermondii* ВКПМ Y-248 от среды для культивирования с получением фильтрата культуральной жидкости;
  - 3) выращивание штамма *Pichia guilliermondii* ВКПМ Y-1858 на среде для культивирования, содержащей фильтрат культуральной жидкости, полученный на стадии ф.2), и сток, полученный на стадии д);
  - 4) отделение биомассы штамма *Pichia guilliermondii* ВКПМ Y-1858 от среды для культивирования;
  - г) объединение биомассы штаммов, полученных на стадиях ф.2) и ф.4), с получением готового продукта.

В некоторых вариантах изобретения дробление на стадии а) осуществляют влажным способом при гидромодуле 1:3.

Также в некоторых частных, но не ограничивающих вариантах изобретения гидролиз на стадии б) осуществляют ферментным препаратом, содержащим альфа-амилазу.

В некоторых частных, но не ограничивающих вариантах изобретения гидролиз на стадии б) осуществляют при рН 5,5-6,5.

В некоторых частных, но не ограничивающих вариантах изобретения среда для культивирования, полученная на стадии е), содержит следующие компоненты:

(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> - 0,5%;

MgSO<sub>4</sub> - 0,05%;

NaCl - 0,01%;

CaCl<sub>2</sub> - 0,01%;

Тиамин - 50 мкг/л;

CoSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O - 25 мг/л;

ферментоллизат до содержания общих редуцирующих веществ (ОРВ) - 1-6%;

вода - остальное.

В некоторых вариантах изобретения на стадии f.1) выращивание осуществляют отъемно-доливным способом и долив осуществляют средой для культивирования, полученной на стадии e).

В некоторых вариантах изобретения на стадии f.3) выращивание осуществляют отъемно-доливным способом и долив осуществляют средой для культивирования, содержащей фильтрат культуральной жидкости, полученный на стадии f.2), и сток, полученный на стадии d).

Также в некоторых вариантах изобретения на стадии f.1) выращивание осуществляют с подачей углеродной подпитки.

В некоторых частных, но не ограничивающих вариантах изобретения подпитку осуществляют ферментоллизатом с содержанием общих редуцирующих веществ 25-35%.

В некоторых частных, но не ограничивающих вариантах изобретения на стадии f) pH среды поддерживают на заданном уровне 12% раствором аммиачной воды или аммиаком.

Для получения готового продукта в некоторых вариантах изобретения биомассы, полученные на стадии f.2) и f.4), подвергают концентрированию, после чего биомассы объединяют, подвергают сушке и необязательно грануляции.

В некоторых других вариантах осуществления изобретения для получения готового продукта биомассу, полученную на стадии f.2) и f.4), объединяют и подвергают концентрированию, сушке и необязательно грануляции.

Для получения готового продукта дополнительно проводят автолиз объединенной биомассы штаммов, полученных на стадиях f.2) и f.4), совмещенный с ферментоллизом протеолитическим ферментом, при температуре 50-55°C и pH 6,5 в течение 6 ч, повышая при этом концентрацию свободных аминокислот до содержания не менее 45%, и сушат автолизат.

В некоторых вариантах изобретения зерновые оболочки, полученные на стадии d), подвергают сушке в вакуумной сушилке при температуре 40°C и измельчению до размера не более 80 мкм или до размера не более 200 мкм для получения готового кормового и/или ветеринарного продукта.

Изобретение также относится к кормовому, фармацевтическому или косметическому продукту, содержащему высокобелковую биомассу дрожжей.

В результате осуществления изобретения достигаются следующие технические результаты:

увеличено содержание сырого протеина в биомассе дрожжей до 70% и более и истинного белка до 55-65%, а также улучшен состав незаменимых аминокислот в биомассе дрожжей;

сокращены стадии ферментативного гидролиза и расход ферментных препаратов в процессе предобработки крахмалсодержащего сырья;

получены дополнительный кормовой и ветеринарный продукт из зерновых оболочек, а также автолизат дрожжевой биомассы с содержанием свободных аминокислот не менее 45%;

обеспечены использование некондиционного крахмалсодержащего зернового сырья, а также утилизация промышленных стоков.

### **Подробное описание изобретения**

Изобретение направлено на получение высокобелковой биомассы дрожжей с высоким содержанием сырого протеина, незаменимых аминокислот: лизина, метионина и валина, с одновременной глубокой комплексной переработкой сырья и упрощением технологической схемы.

Для получения высокобелковой биомассы дрожжей с содержанием сырого протеина не менее 70%, с высоким содержанием незаменимых аминокислот лизина, метионина и валина (не менее 6, 2,1, 3%, соответственно) с одновременной глубокой комплексной переработкой крахмалсодержащего зернового сырья и упрощением технологической схемы процесса производства биомассы дрожжей, проводят предобработку крахмалсодержащего зернового сырья, в том числе и некондиционного сырья, приготовление среды для культивирования, последовательный процесс выращивания двух штаммов микроорганизмов - продуцентов белка: *Pichia quilliermondii* ВКПМ Y-248, потребляющего ди-, три- и тетрасахара, и *Pichia quilliermondii* ВКПМ Y-1858, утилизирующего органические кислоты, отделение полученных биомасс дрожжей.

Предобработка крахмалсодержащего зернового сырья заключается в дроблении крахмалсодержащего зернового сырья высокотемпературным одностадийным ферментативным гидролизом при температуре не менее 90°C зернового сырья, без отделения зерновых оболочек с получением ферментолизата (гидролизата крахмалсодержащего зернового сырья) и последующим отделением зерновых оболочек от ферментолизата (гидролизата).

Зерновые оболочки, полученные после отделения от ферментолизата, подвергаются обработке раствором перекиси водорода при температуре не более 75°C с последующим отжимом зерновых оболочек. В процессе отжима зерновых оболочек образуется сток - жидкий технологический отход, который используется на последующих стадиях выращивания штаммов дрожжей в качестве компонента среды для культивирования одного из штаммов дрожжей. Использование стока на последующих стадиях культивирования позволяет решить проблему утилизации технологического стока.

В качестве сырья используют отруби и другие крахмал- и целлюлозосодержащие отходы, после спиртовой барду, в том числе может быть использовано некондиционное зерновое сырье: зерна основной

культуры, битые, изъеденные вредителями; зерна, проросшие с ростком, вышедшим наружу, или утратившие росток; щуплые, недоразвитые (зерна мелкие, со слабо развитым эндоспермом); морозобойные; зеленые зерна основной культуры (недозревшие); раздавленные зерна; щуплое зерно; зерна с ядром, полностью выеденным вредителями.

Полученный в результате предобработки зернового сырья ферментолитат (гидролизат) используют для приготовления среды для культивирования дрожжей.

Согласно данному изобретению среда для культивирования содержит углеводную и солевую часть и используется для культивирования первого штамма дрожжей - продуцента белка. Углеводная часть среды для культивирования представляет собой ферментолитат крахмалсодержащего зернового сырья (гидролизат), полученный на стадии предобработки зернового сырья, и/или его растворы. Солевая часть среды для культивирования представляет собой минеральные соли. Также среда для культивирования содержит дополнительные компоненты (добавки) в виде кобальта (II) и тиамин (витамин B1). Внесение добавок в состав основной питательной среды способствует увеличению накопления биомассы (тиамин используется в качестве фактора роста микроорганизмов) и увеличению содержания незаменимых аминокислот: лизина, метионина и валина, так как ферменты, участвующие в синтезе аминокислот кобальтин-зависимые, их коферментом является витамин B12, в состав которого входит кобальт.

Выращивание (культивирование) двух штаммов дрожжей, первый из которых использует ди-, три- и тетрасахара, а второй утилизирует органические кислоты с предшествующего процесса ферментации (выращивания), проводят последовательно. В рамках данного изобретения в качестве первого штамма предпочтительно используется штамм дрожжей *Pichia guilliermondii* ВКПМ Y-248, а в качестве второго штамма - штамм дрожжей - продуцент белка, потребляющий органические кислоты. Наиболее предпочтительно использование штамма дрожжей *Pichia guilliermondii* ВКПМ Y-248, потребляющего ди-, три- и тетрасахара (углеводы: дисахариды и олигосахариды, а именно три- и тетрасахариды), и штамма дрожжей *Pichia guilliermondii* ВКПМ Y-1858, утилизирующего органические кислоты, образующиеся на первой стадии процесса выращивания, причем питательной средой для культивирования второй культуры дрожжей является объединенный сток после обработки зерновых оболочек и фильтрата культуральной жидкости с предшествующего процесса ферментации. Для этого после стадии выращивания штамма дрожжей *Pichia guilliermondii* ВКПМ Y-248 на основной среде для культивирования производят отделение биомассы штамма *Pichia guilliermondii* ВКПМ Y-248 от среды для культивирования с получением фильтрата культуральной жидкости, который объединяют со стоком, полученным на стадии обработки зерновых оболочек. Объединенный сток фильтрата культуральной жидкости и сток со стадии обработки зерновых оболочек используется в качестве среды для культивирования штамма дрожжей *Pichia guilliermondii* ВКПМ Y-1858. После стадии выращивания штамма дрожжей *Pichia guilliermondii* ВКПМ Y-1858 производят отделение биомассы штамма от среды для культивирования.

Используемые штаммы дрожжей не являются патогенными, прототрофны и термоустойчивы.

Полученные биомассы штаммов дрожжей, как по отдельности, так и совместно используются для получения готового продукта - высокобелковой биомассы дрожжей.

В некоторых наиболее предпочтительных вариантах данного изобретения крахмалсодержащее, в том числе некондиционное зерновое сырье в процессе предобработки подвергают дроблению влажным способом при гидромодуле 1:3. В случае использования гидромодуля более 1:3 дополнительно проводят стадию концентрирования (например, путем выпаривания) полученного на последующих стадиях ферментолитата (гидролизата) до получения заданных концентраций общих редуцирующих веществ (ОРВ).

Высокотемпературный ферментативный гидролиз крахмалсодержащего зернового сырья осуществляют ферментными препаратами, осуществляющими гидролиз зернового сырья до ди- и олигосахаридов, предпочтительно ди-, три- и тетрасахаридов. При использовании в качестве источника углерода ди- три- и тетрасахаров (например, мальтозы, мальтотриозы и мальтотетраозы) часть сахаров, поступающая на синтез белка, увеличивается до 70-75%, в результате чего образуется более 50-55% внутриклеточного истинного белка, так как при использовании в качестве источников углерода ди-, три- и тетрасахаров они поступают в дрожжевую клетку путем диффузии и активным транспортом, их гидролиз до глюкозы происходит внутри клетки под действием прикрепленных к внутренней мембране ферментов. Фосфорилирование полученной глюкозы тоже происходит внутри клетки. При этом один моль глюкозо-6-фосфата также делится пополам на два пути синтеза: пентозо-фосфатный и цикл Кребса, а второй моль полностью поступает в цикл Кребса. Таким образом, теоретически максимально возможный процент получения внутриклеточного белка в этом случае возрастает до 75%.

В качестве ферментных препаратов могут быть использованы амилолитические ферментные препараты, например ферментные препараты амилаз. В некоторых частных, но не ограничивающих вариантах изобретения используются ферментные препараты альфа-амилаз. Диапазон pH выбирается в зависимости от используемого ферментного препарата. В некоторых частных, но не ограничивающих вариантах изобретения гидролиз крахмалсодержащего зернового сырья осуществляют при pH 5,5-6,5.

Примером среды для культивирования штамма дрожжей *Pichia guilliermondii* ВКПМ Y-248 по изобретению может быть среда следующего состава:

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  - 0,5%;

MgSO<sub>4</sub> - 0,05%;  
NaCl - 0,01%;  
CaCl<sub>2</sub> - 0,01%;  
тиамин - 50 мкг/л;  
CoSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O - 25 мг/л;  
ферментолизат до содержания общих редуцирующих веществ (ОРВ) - 1-6%;  
вода - остальное.

Углеводная часть среды для культивирования (питательной среды) представляет собой ферментолизат (гидролизат), полученный в результате ферментативного гидролиза крахмалсодержащего зернового сырья.

В некоторых частных, но не ограничивающих вариантах воплощения изобретения выращивание штамма дрожжей *Pichia guilliermondii* ВКПМ Y-248 осуществляют отъемно-доливным способом и долив осуществляют основной средой для культивирования, состоящей из углеводной и солевой частей.

В некоторых частных, но не ограничивающих вариантах воплощения изобретения выращивание штамма дрожжей *Pichia guilliermondii* ВКПМ Y-1858 осуществляют отъемно-доливным способом и долив осуществляют средой для культивирования, содержащей фильтрат культуральной жидкости, полученный на стадии выращивания штамма дрожжей *Pichia guilliermondii* ВКПМ Y-248, и сток, полученный на стадии обработки зерновых оболочек.

Культивирование штамма дрожжей *Pichia guilliermondii* ВКПМ Y-248 в некоторых вариантах изобретения осуществляют с подачей углеводной подпитки. В качестве подпитки предпочтительно использовать ферментолизат с содержанием общих редуцирующих веществ (ОРВ) 25-35%.

В процессе культивирования pH среды поддерживают на заданном уровне, наиболее предпочтительно pH среды поддерживают 12% раствором аммиачной воды или аммиаком.

Для получения готового продукта в некоторых вариантах изобретения биомассы дрожжей *Pichia guilliermondii* ВКПМ Y-248 и *Pichia guilliermondii* ВКПМ Y-1858, полученные в процессе культивирования, отделяют от среды культивирования и по отдельности подвергают концентрированию, затем объединяют, подвергают сушке и необязательно грануляции. В рамках данного изобретения предусмотрено также отделение, объединение полученных биомасс двух штаммов дрожжей и последующие концентрирование, сушка и необязательно грануляция.

Для получения готового продукта дополнительно проводят автолиз объединенной биомассы двух штаммов дрожжей, совмещенный с ферментолизом протеолитическим ферментом, при температуре 50-55°C и pH 6,5 в течение 6 ч, повышая при этом концентрацию свободных аминокислот до содержания не менее 45%, и сушат автолизат.

Полученные зерновые оболочки подвергают сушке в вакуумной сушилке при температуре 40°C, измельчению до размера не более 80 мкм или до размера не более 200 мкм для получения готового кормового и/или ветеринарного продукта. Полученный кормовой и/или ветеринарный продукт - пищевые волокна оказывает энтеросорбирующее, дезинтоксигирующее, противодиарейное, антиоксидантное и гипополипидемическое действие при желудочно-кишечных заболеваниях сельскохозяйственных животных.

Для получения готового продукта может быть использована как высокобелковая биомасса дрожжей, так и дрожжевые автолизаты. На основе высокобелковой биомассы получают продукт кормового назначения, фармацевтический продукт как ветеринарного, так и медицинского назначения, а также косметический продукт для применения в косметологии.

Способ осуществляют следующим образом.

В одном из вариантов осуществления изобретения проводится поэтапное выращивание двух штаммов микроорганизмов - продуцентов белка в условиях аэрации, отъемно-доливным способом, на питательной среде, состоящей из углеводной и солевой частей.

На первом этапе выращивания дрожжевых культур первым, дающим 85% от общего количества биомассы используется штамм дрожжей *Pichia guilliermondii* ВКПМ Y-248, потребляющий ди-, три- и тетрасахара. Процесс выращивания данного штамма дрожжевой культуры на первом этапе состоит из накопления биомассы в течение 12-18 ч с подачей углеводной подпитки при pH выше 6,5 в количестве 6,8-7% от рабочего объема ферментера, предпочтительно с содержанием общего количества редуцирующих веществ (ОРВ) 25-35%, наиболее предпочтительно с содержанием ОРВ 30%. По окончании подачи подпитки проводят процесс культивирования отъемно-доливным способом. Общее количество операций слива-долива - 5. Отъем культуральной жидкости и долив основной среды для культивирования (питательной среды), предпочтительно с содержанием ОРВ 1-6%, наиболее предпочтительно ОРВ 5-6% дополнительных компонентов (витаминов и микроэлементов: тиамин и кобальта, 50 мкг/л и 25 мг/л соответственно) проводят в количестве 65-70% от рабочего объема ферментера. Время каждой из операций составляет 12-14 ч. Процесс выращивания дрожжевой культуры идет с подачей дополнительной углеводной питательной среды с содержанием ОРВ 30%. Углеводную подпитку дают при увеличении pH выше 6,5 через каждые 6-8 ч операции. В процессе культивирования дрожжевых культур микроорганизмов поддерживают pH 5,5-6,5 12% раствором аммиачной воды или аммиаком.

На втором этапе производства высокобелковой биомассы дрожжей проводят выращивание в отъ-

емно-доливном режиме в течение 56-60 ч штамма дрожжей *Pichia guilliermondii* ВКПМ У-1858, потребляющего метаболиты - органические кислоты, образующиеся в процессе культивирования предыдущей дрожжевой культуры. Питательной средой на данном этапе является объединенный сток, получаемый после обработки зерновых оболочек и фильтрата культуральной жидкости с предшествующего процесса ферментации штамма дрожжей *Pichia guilliermondii* ВКПМ У-248. рН процесса поддерживают 12% раствором аммиачной воды или аммиаком. Дрожжевую биомассу концентрируют, объединяют, проводят сушку готового продукта в сушильном аппарате с грануляцией.

Для приготовления питательной среды крахмалсодержащее зерновое сырье и/или отруби подвергают дроблению влажным способом с гидромодулем 1:3, после чего без предварительного отделения зерновых оболочек проводят ферментативный гидролиз термостабильной альфа-амилазой, предпочтительно при температуре не менее 90°C, наиболее предпочтительно при температуре 90°C и рН не более 5,5-6,5.

Проведение описанного ферментативного гидролиза позволяет получить ферментолитат, состоящий на 80% и более из ди-, три- и тетрасахаров, таких как мальтоза, мальтотриоза и мальтотетраоза.

После ферментативного гидролиза зерновые оболочки отделяют и подвергают обработке концентрированным раствором перекиси водорода, создавая концентрацию перекиси водорода в растворе 1,5%, при температуре предпочтительно не более 75°C, наиболее предпочтительно 70°C в течение 2 ч при интенсивном перемешивании, после чего зерновые оболочки отжимают на прессе, высушивают в вакуумной сушилке при температуре 40°C, измельчают до размеров частиц диаметром предпочтительно не более 80 мкм и/или не более 200 мкм, наиболее предпочтительно 80 мкм и 200 мкм.

Получают готовый целевой продукт кормового и/или ветеринарного назначения - пищевые волокна.

Предлагаемый способ получения высокобелковой биомассы дрожжей из крахмалсодержащего зернового сырья реализуется следующим образом.

Крахмалсодержащее зерновое сырье подвергают дроблению при гидромодуле 1:3 любым влажным способом (на кавитационном аппарате, на ультразвуковом, роторно-пульсационном оборудовании), готовят водную суспензию раздробленного сырья без предварительного отделения зерновых оболочек с содержанием сухих веществ 20-25% и проводят ферментативный гидролиз амилолитическим препаратом - термостабильной альфа-амилазой при температуре 90°C, рН 5,5-6,5 в течение 2 ч. В результате проведенного ферментативного гидролиза получают ферментолитат, содержание общих редуцирующих веществ (ОРВ) в котором 15-16%, состоящий на 80% и более из ди-, три- и тетрасахаров, причем 45% составляет мальтоза.

Проведение высокотемпературного ферментативного гидролиза раздробленного зернового сырья без предварительного отделения зерновых оболочек позволяет использовать некондиционное зерновое сырье и получать в качестве готового продукта (пищевых волокон) высушенные и размолотые зерновые оболочки кормового и/или ветеринарного назначения.

После проведенного ферментативного гидролиза зерновые оболочки отделяют на роторных ситах.

Для использования полученного ферментолита в качестве дополнительной углеводной подпитки повышают содержание ОРВ в нем до 25-35% путем выпаривания в вакуум-выпарной установке 50% объема, полученного ферментолита.

Оставшийся объем ферментолита используют без выпаривания для приготовления основной питательной среды в качестве углеводной ее части (содержание ОРВ 1-6%), что позволяет сократить выпариваемый объем вдвое и соответственно уменьшить расходы на проведение данного процесса.

Выделенные зерновые оболочки подвергают обработке концентрированным раствором перекиси водорода, создавая концентрацию перекиси водорода в растворе 1,5% при температуре 70°C в течение 2 ч при интенсивном перемешивании, затем отжимают на шнековом прессе, высушивают в вакуумной сушилке при температуре 40°C, измельчают до размеров частиц диаметром 80 или 200 мкм и получают готовый целевой продукт кормового и/или ветеринарного назначения - пищевые волокна.

Сток после отжима обработанных зерновых оболочек направляют на приготовление питательной среды для второго этапа выращивания - штамма дрожжей *Pichia guilliermondii* ВКПМ У-1858.

Основная питательная среда состоит из углеводной и солевой частей. Содержание ОРВ в основной питательной среде составляет 5-6%. Для увеличения содержания незаменимых аминокислот (лизина, метионина, валина) в питательную среду добавляют дополнительные компоненты (витамины и микроэлементы: тиамин и кобальт (II) в виде солей кобальта) в количестве 50 мкг/л и 25 мг/л соответственно. После чего последовательно проводят процесс культивирования штаммов дрожжей *Pichia guilliermondii* ВКПМ У-248 и *Pichia guilliermondii* ВКПМ У-1858.

Способ получения высокобелковой биомассы дрожжей состоит из двух этапов: культивирование штамма дрожжей *Pichia guilliermondii* ВКПМ У-248 и культивирование штамма дрожжей *Pichia guilliermondii* ВКПМ У-1858.

Процесс культивирования штамма дрожжей *Pichia guilliermondii* ВКПМ У-248 аэробный, состоит из накопления биомассы в течение 12-18 ч с подачей углеводной подпитки, содержащей 30% ОРВ, при увеличении рН выше 6,5, в количестве 6,8-7% от рабочего объема ферментера. По окончании подачи подпитки (через 6-12 ч) проводят процесс культивирования штамма дрожжей отъемно-доливным способом,

общее количество отъемно-доливных операций - 5. Отъем культуральной жидкости и долив основной питательной среды с содержанием ОРВ 5-6%, дополнительных компонентов (витаминов и микроэлементов: тиамин и кобальта) 50 мкг/л и 25 мг/л соответственно проводят в количестве 65-70% от рабочего объема ферментера. Время первой операции составляет 14 ч, время последующих четырех операций - 12 ч каждая. Процесс выращивания дрожжевой культуры идет с подачей углеводной подпитки (ферментализата) с содержанием ОРВ 30%. Углеводную подпитку дают при увеличении pH выше 6,5 через каждые 6-8 ч операции. В процессе культивирования дрожжевых культур микроорганизмов pH поддерживают 12% раствором аммиачной воды или аммиаком. Концентрация биомассы дрожжей в конце каждой операции составляет 35-45 г/л. Концентрирование биомассы производится любым возможным способом (сепарирование, центрифугирование, ультрафильтрация). Фильтрат культуральной жидкости направляют для объединения со стоком, получаемым после отжима зерновых оболочек, объединенный сток служит питательной средой для второй культуры дрожжей *Pichia guilliermondii* ВКПМ У-1858, утилизирующей оставшиеся после первого этапа культивирования органические кислоты.

Культивирование штамма дрожжей *Pichia guilliermondii* ВКПМ У-1858 на втором этапе проводят также в отъемно-доливном режиме, с предварительным накоплением биомассы до 6-7 г/л в течение 16 ч в аэробных условиях при температуре 40°C с количеством операций слив-долив, равным 5. Концентрация биомассы в конце каждой операции составляет 8-10 г/л, время операции слив-долив - по 8 ч каждая.

В ходе процесса pH поддерживают 12% раствором аммиачной воды или аммиаком.

Сконцентрированную дрожжевую биомассу объединяют и направляют на сушку и грануляцию в сушильный аппарат.

Сток, получаемый после концентрирования дрожжевой биомассы на втором этапе направляют для доочистки в аэротенк и возвращают воду в процесс дробления зерна, получая практически замкнутый цикл по воде в процессе получения высокобелковой дрожжевой биомассы из крахмалсодержащего зернового сырья.

Проведение одностадийного ферментативного гидролиза некондиционного зернового сырья без отделения зерновых оболочек амилолитическим препаратом с термостабильной альфа-амилазой позволяет получить ферментализат с содержанием ди- три- и тетрасахаров (мальтоза, мальтотриоза и мальтотетраоза) до 80%. Что способствует образованию внутриклеточного истинного белка более 50-60% (до 70-75% по сырому протеину) и в то же время исключает необходимость проведения дополнительных стадий: разделение зернового сырья на фракции, проведение дополнительного гидролиза с использованием других дорогостоящих ферментных препаратов.

В процессе получения высокобелковой кормовой добавки из крахмалсодержащего зернового сырья используется только два штамма дрожжей, применение которых дает возможность получить дрожжевую биомассу с содержанием сырого протеина не менее 70%, что на 7% выше, чем в прототипе, с одновременной утилизацией в стоке метаболитов микробиологического синтеза, что позволяет использовать его снова в технологическом цикле и приводит к сокращению расходов воды в процессе производства белковой биомассы дрожжей.

Проведение одностадийного ферментативного гидролиза, использование меньшего количества штаммов дрожжей в производственном процессе приводит к сокращению количества технологических операций и соответственно упрощению технологической схемы производства белковой биомассы дрожжей.

Добавление в питательную среду дополнительных микроэлементов и витаминов, таких как кобальт и тиамин, позволяет получить высокобелковую биомассу дрожжей с высоким содержанием таких аминокислот как лизин, метионин и валин, содержание которых составляет соответственно не менее (%): лизин - 6,0; метионин - 2,1; валин - 3,0.

В результате совокупности существенных признаков получается высокобелковая биомасса дрожжей с содержанием сырого протеина не менее 70%, содержащая в своем составе незаменимые аминокислоты (лизин, метионин, валин), содержание которых выше в 1,4-3 раза, чем в прототипе, витамины группы В с одновременной глубокой переработкой зернового крахмалсодержащего сырья, включая некондиционное, с получением готового продукта - пищевых волокон и автолизата дрожжевой биомассы с содержанием свободных аминокислот более 45%.

Следует понимать, что эти и все приведенные в материалах заявки примеры не являются ограничивающими и приведены только для иллюстрации настоящего изобретения.

Пример 1.

Брали некондиционное (проросшее) зерно пшеницы в количестве 72 кг с влажностью 13%, смешивали с водопроводной водой в соотношении 1:3 и подвергали влажному дроблению на роторно-пульсационном аппарате (РПА) "ЭНА" (Россия) однократно.

Полученную водную суспензию раздробленного сырья в количестве 288 л подвергали ферментативному гидролизу амилолитическим препаратом, содержащим термостабильную альфа-амилазу, Tegtamyl SC DS фирмы Novozymes (производство Дания). Для этого в реактор с водной суспензией вносили 89 мл указанного амилолитического препарата и проводили ферментативный гидролиз при температуре 90°C, pH 5,5-6,5 в течение 2 ч. Получали ферментализат в количестве 288,1 л с содержанием общих



редуцирующих веществ 15,6%. После чего зерновые оболочки отделяли на вращающихся ситах и получили 57,6 кг с влажностью 92%.

После отделения зерновых оболочек полученный ферментоллизат в количестве 115 л направляли на выпаривание в течение 2 ч в вакуум-выпарном аппарате до 60 л и содержанием ОРВ 30% для последующего использования в процессе выращивания дрожжевой биомассы в качестве углеводных подпиток. Оставшуюся половину ферментоллизата использовали для приготовления основной питательной среды.

Посевной материал дрожжей *Pichia guilliermondii* ВКПМ Y-248 готовили в количестве 0,6 л на питательной среде, содержащей аммоний сернокислый ((NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) - 0,3%, магний сернокислый (MgSO<sub>4</sub>) - 0,05%, натрий хлорид (NaCl) - 0,01%, кальций хлорид (CaCl<sub>2</sub>) - 0,01%, дрожжевой экстракт - 0,5%, тиамин (В<sub>1</sub>) - 50 мкг/л, кобальт сернокислый 7-водный (CoSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O) - 25 мг/л, ферментоллизат (гидролизат) с содержанием ОРВ - 2%. Культуру дрожжей *Pichia guilliermondii* ВКПМ Y-248 смывом с твердой питательной среды переносили в посевную питательную среду, разливали по стерильным качалочным колбам, содержащим по 0,5 г мела, и культивировали на качалке при температуре 40°C и числе оборотов 300 об/мин в течение 24 ч. Готовый посевной материал объединяли и использовали для засева рабочего ферментера.

Культивирование штамма дрожжей *Pichia guilliermondii* ВКПМ Y-248 проводили в ферментере с рабочим объемом 25 л, в котором предварительно стерилизовали 18 л основной питательной среды.

Основная питательная среда:

(NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> - 0,5%;

MgSO<sub>4</sub> - 0,05%;

NaCl - 0,01%;

CaCl<sub>2</sub> - 0,01%;

тиамин - 50 мкг/л;

CoSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O - 25 мг/л;

ферментоллизат с содержанием общих редуцирующих веществ (ОРВ) - 6%.

Основной процесс культивирования проводили отъемно-доливным способом при температуре 40°C, pH 6,5, расход воздуха - 25 л/мин, скорость перемешивания - 500 об/мин, pH процесса поддерживали подачей 12% аммиачной воды.

После засева ферментера посевным материалом *Pichia guilliermondii* ВКПМ Y-248 объемом 0,6 л проводили процесс накопления биомассы в течение 24 ч. Углеводную подпитку, содержащую 30% ОРВ, давали в количестве 1,7 л через 8 ч при увеличении pH выше 6,5. После накопления биомассы до 35 г/л проводили частичный слив культуральной жидкости и долив основной питательной среды в объеме 17 л. Процесс вели также с подачей углеводной подпитки в количестве 1,7 л при увеличении pH выше 6,5. Количество операций отъема - долива равнялось 5. Продолжительность первой операции отъема - долива составляла 14 ч, последующих четырех - по 12 ч каждая. Операцию "отъем - долив" проводили по достижению концентрации биомассы в культуральной жидкости 45 г/л. Общее время процесса культивирования составило 86 ч, количество полученной биомассы - 4,78 кг (по сухому весу). Концентрирование дрожжевой биомассы проводили путем сепарации культуральной жидкости.

Полученный фильтрат культуральной жидкости в количестве 110 л объединяли со стоком, получаемым после обработки и отжима зерновых оболочек, и полученный объединенный сток использовали на втором этапе производства высокобелковой биомассы дрожжей в качестве основной питательной среды для выращивания культуры дрожжей *Pichia guilliermondii* ВКПМ Y-1858.

Культивирование штамма дрожжей *Pichia guilliermondii* ВКПМ Y-1858 на втором этапе производства дрожжевой биомассы проводили в условиях, аналогичных первому этапу, в отъемно-доливном режиме без подачи углеводной подпитки.

В ферментер рабочим объемом 25 л загружали 22,5 л объединенного стока и проводили засев 2 л посевного материала из колб с культурой дрожжей *Pichia guilliermondii* ВКПМ Y-1858. Накопление биомассы проходило в течение 16 ч, при достижении концентрации биомассы 6 г/л проводили отлив культуральной жидкости и долив среды для культивирования (объединенного стока) в количестве 17 л. После чего проводили 5 операций отъема - долива при достижении концентрации биомассы в культуральной жидкости 8 г/л. Время каждой из операций составило 8 ч. Общее время процесса культивирования составило 56 ч, количество полученной биомассы - 0,85 кг (по сухому весу).

Сконцентрированную дрожжевую биомассу объединили с биомассой, полученной на первом этапе производства, после чего провели сушку и грануляцию и получили 6,2 кг дрожжевой биомассы с влажностью 10%.

Состав биомассы (в % по сухому весу): сырой протеин - 72,8, сырая клетчатка - 0,35, массовая доля золы - 2,3, массовая доля белка по Барнштейну - 60,9; аминокислотный состав биомассы: лизин - 6, метионин - 2,1, триптофан - 0,7, аргинин - 2,0, гистидин - 1,8, лейцин - 2,9, тирозин - 2,12, аланин - 3,2%, треонин - 1,5, валин - 3,0, метионин+цистин - 3,1, глицин - 2,96, глутаминовая кислота - 9,5, аспарагиновая кислота - 3,8; содержание витаминов (мг/г): тиамин (В<sub>1</sub>) - 5,3; рибофлавин (В<sub>2</sub>) - 15,6; пантотеновая кислота (В<sub>3</sub>) - 39,5; холин (В<sub>4</sub>) - 1800; никотиновая кислота (В<sub>5</sub>) - 39,4; пиридоксин (В<sub>6</sub>) - 18,7; цианкоба-

ламин ( $B_{12}$ ) - 38,5. Общая обсемененность - 90-100 Е/мл. Общая конверсия углеводов в биомассу дрожжей составила не менее 50%. Содержание сырого протеина на 10% выше, чем в прототипе, содержание лизина выше на 40%, метионина - на 48%, валина - на 66%.

Аминокислотный состав продукта определяли методом тонкослойной хроматографии и компьютерным количественным определением после сканирования хроматограмм.

#### Пример 2.

Зерновые оболочки после проведения ферментативного гидролиза аналогично примеру 1 отделяли на вращающихся ситах. Полученную массу в количестве 57,6 кг помещали в реактор с мешалкой и проводили обработку 31% раствором перекиси водорода в количестве 2,88 л, создавая концентрацию перекиси водорода в растворе 1,5%. Обработку зерновых оболочек проводили при температуре 70°C в течение двух часов при интенсивном перемешивании, затем массу отжимали на шнековом прессе до содержания сухих веществ 30% и высушивали в вакуумной сушилке при температуре 40°C, после чего измельчали до размеров частиц диаметром 80 мкм или 200 мкм. Получили 4,97 кг готового продукта с влажностью 5%.

Сток 50 л после отжима обработанных зерновых оболочек направляли на приготовление питательной среды для второго этапа выращивания - штамма дрожжей *Pichia guilliermondii* ВКПМ У-1858.

Полученный готовый продукт - пищевые волокна - может быть использован в ветеринарных и кормовых целях для профилактики и лечения желудочно-кишечных болезней сельскохозяйственных животных, в том числе сельскохозяйственных птиц, в качестве детоксикационного и сорбирующего средства; пищевые волокна могут применяться в качестве пищевых и биологически активных добавок, так называемых биокорректоров, так как они связывают патогенные микроорганизмы, продукты их жизнедеятельности, токсины экзогенной природы, аллергены, тяжелые металлы, радиоактивные изотопы, аммиак, двухвалентные катионы и способствуют их выведению через желудочно-кишечный тракт.

#### Пример 3.

Биомассу дрожжей после стадии сепарации, полученную аналогично примеру 1, в количестве 20 л направляли в реактор с нагревательной рубашкой рабочим объемом 30л. К биомассе дрожжей добавляли протеолитический ферментный препарат Нейтраза (производство "Novozymes A/S" Дания) из расчета 10 Е/г белка, доводили рН культуральной жидкости 10% раствором едкого натра до значения 5,6 и проводили автолиз, совмещенный с ферментололизом при температуре 50-55°C в течение 6 ч. После чего производили сушку продукта при температуре 120-125°C до остаточной влажности в конечном продукте 5%.

Полученный продукт - автолизат дрожжевой биомассы - содержал более 45% водорастворимых, легко усваиваемых аминокислот.

Состав дрожжевого автолизата (в % по сухому веществу): сырой протеин - 72,8, сырая клетчатка - 0,35, аминный азот - 3,3; аминокислотный состав биомассы: лизин - 6, метионин - 2,1, триптофан - 0,7, аргинин - 2,0, гистидин - 1,8, лейцин - 2,9, тирозин - 2,12, аланин - 3,2, треонин - 1,5, валин - 3,0, метионин-цистин - 3,1, глицин - 2,96.

В результате проведенного автолиза белковая молекула делится по пептидным связям на три-тетрапептиды, что в последующем позволяет усваивать продукт максимально быстро и эффективно при меньших затратах энергии самого организма.

Приведенные примеры подтверждают, что предлагаемый способ получения высокобелковой биомассы дрожжей позволяет получить кормовой продукт улучшенного качества при сокращении числа операций процесса производства дрожжевой биомассы и упрощении технологической схемы производства по сравнению с прототипом. При этом в ходе процесса производства дрожжевой биомассы получается еще дополнительный продукт (пищевые волокна), применяемый в ветеринарии, оказывающий энтеросорбирующее, дезинтоксицирующее, противодиарейное, антиоксидантное и гиполлипидемическое действие.

Полученная высокобелковая дрожжевая биомасса по аминокислотному составу и содержанию сырого протеина в продукте приближается к рыбной муке и может быть использована в качестве заменителя рыбной муки, считающейся наиболее ценным кормовым продуктом, при приготовлении комбикормов. Полученная биомасса дрожжей, а также дрожжевые автолизаты могут быть использованы для изготовления продукта косметического, а также фармацевтического назначения.

Несмотря на то, что изобретение описано со ссылкой на раскрываемые варианты воплощения, для специалистов в данной области должно быть очевидно, что конкретные подробно описанные эксперименты приведены лишь в целях иллюстрирования настоящего изобретения, и их не следует рассматривать как каким-либо образом ограничивающие объем изобретения. Должно быть понятно, что возможно осуществление различных модификаций без отступления от сути настоящего изобретения.

### ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ получения высокобелковой биомассы дрожжей на среде для культивирования, полученной из крахмалсодержащего зернового сырья, включающий следующие стадии:

- а) дробление крахмалсодержащего зернового сырья;
- б) проведение высокотемпературного одностадийного ферментативного гидролиза крахмалсодер-

жащего зернового сырья, полученного на стадии а), без отделения зерновых оболочек при температуре не менее 90°C с получением ферментолита;

с) отделение зерновых оболочек от ферментолита;

д) обработка зерновых оболочек, полученных на стадии с), раствором перекиси водорода при температуре не более 75°C и отжим с получением стока;

е) приготовление среды для культивирования на основе ферментолита, полученного на стадии с), с добавлением минеральных солей, в том числе кобальта (II), а также тиамин;

ф) последовательное выращивание, включающее следующие стадии:

f.1) выращивание штамма *Pichia guilliermondii* ВКПМ Y-248 на среде для культивирования, полученной на стадии е);

f.2) отделение биомассы штамма *Pichia guilliermondii* ВКПМ Y-248 от среды для культивирования с получением фильтрата культуральной жидкости;

f.3) выращивание штамма *Pichia guilliermondii* ВКПМ Y-1858 на среде для культивирования, содержащей фильтрат культуральной жидкости, полученный на стадии f.2), и сток, полученный на стадии d);

f.4) отделение биомассы штамма *Pichia guilliermondii* ВКПМ Y-1858 от среды для культивирования;

г) объединение биомассы штаммов, полученных на стадиях f.2) и f.4), с получением готового продукта.

2. Способ по п.1, в котором дробление на стадии а) осуществляют влажным способом при гидромодуле 1:3.

3. Способ по п.1, в котором гидролиз на стадии б) осуществляют ферментным препаратом, содержащим альфа-амилазу.

4. Способ по п.1, в котором гидролиз на стадии б) осуществляют при pH 5,5-6,5.

5. Способ по п.1, в котором среда для культивирования, полученная на стадии е), содержит следующие компоненты:

$(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  - 0,5%;

$\text{MgSO}_4$  - 0,05%;

$\text{NaCl}$  - 0,01%;

$\text{CaCl}_2$  - 0,01%;

тиамин - 50 мкг/л;

$\text{CoSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  - 25 мг/л;

ферментолит до содержания общих редуцирующих веществ (ОРВ) - 1-6%;

вода - остальное.

6. Способ по п.1, в котором на стадии f.1) выращивание осуществляют отъемно-доливным способом и долив осуществляют средой для культивирования, полученной на стадии е).

7. Способ по п.1, в котором на стадии f.3) выращивание осуществляют отъемно-доливным способом и долив осуществляют средой для культивирования, содержащей фильтрат культуральной жидкости, полученный на стадии f.2), и сток, полученный на стадии d).

8. Способ по п.1, в котором на стадии f.1) выращивание осуществляют с подачей углеводной подпитки.

9. Способ по п.8, в котором подпитку осуществляют ферментолитом с содержанием общих редуцирующих веществ 25-35%.

10. Способ по п.1, в котором на стадии f) pH среды поддерживают на заданном уровне 12% раствором аммиачной воды или аммиаком.

11. Способ по п.1, в котором для получения готового продукта биомассы, полученные на стадии f.2) и f.4), подвергают концентрированию, после чего биомассы объединяют, подвергают сушке и необязательно грануляции.

12. Способ по п.1, в котором для получения готового продукта биомассу, полученную на стадии f.2) и f.4), объединяют и подвергают концентрированию, сушке и необязательно грануляции.

13. Способ по п.1, характеризующийся тем, что для получения готового продукта дополнительно проводят автолиз объединенной биомассы штаммов, полученных на стадиях f.2) и f.4), совмещенный с ферментолитом протеолитическим ферментом, при температуре 50-55°C и pH 6,5 в течение 6 ч, повышая при этом концентрацию свободных аминокислот до содержания не менее 45%, и сушат автолизат.

14. Способ по п.1, характеризующийся тем, что зерновые оболочки, полученные на стадии d), подвергают сушке в вакуумной сушилке при температуре 40°C и измельчению до размера не более 80 мкм или до размера не более 200 мкм для получения готового кормового и/или ветеринарного продукта.

15. Кормовой продукт, содержащий высокобелковую биомассу дрожжей, полученную по любому из пп.1-13.

