

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202192352** (13) **A1**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ

(43) Дата публикации заявки
2022.01.26

(51) Int. Cl. *A23C 9/12* (2006.01)
A23G 9/36 (2006.01)
A23J 3/20 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2020.02.27

(54) ПИЩЕВЫЕ МАТЕРИАЛЫ, СОДЕРЖАЩИЕ ЧАСТИЦЫ НИТЕВИДНЫХ ГРИБОВ, И ДИЗАЙН МЕМБРАННОГО БИОРЕАКТОРА

(31) 62/811,421

(72) Изобретатель:

(32) 2019.02.27

**Мэкьюр Ричард Юджин, Эвнил
Ювэл Чарльз, Блэк Рената Усайте,**

(33) US

(86) PCT/US2020/020152

**Хэмилтон Максимилиан ДеВэйн,
Харни Майкл Джон, Экстром Элеанор
Брофи, Коузыюбэл Марк Эндрю (US)**

(87) WO 2020/176758 2020.09.03

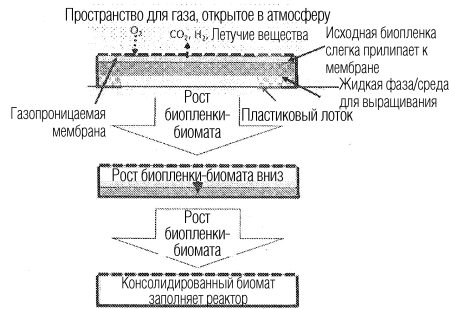
(71) Заявитель:

(74) Представитель:

ДЗЕ ФИНДЕР ГРУП, ИНК. (US)

Медведев В.Н. (RU)

(57) Представлены способы получения съедобных композиций биоматов нитевидных грибов в виде автономных источников белка и/или белковых ингредиентов в пищевых продуктах, а также в виде автономного биоматного реактора для одноразового или многократного использования, содержащего контейнер по меньшей мере с одним отделением и помещенным в отсек(и) сырьем, инокулятом грибов, газопроницаемой мембраной и, необязательно, жидкой питательной средой.



A1

202192352

202192352

A1

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

2420-570357EA/030

ПИЩЕВЫЕ МАТЕРИАЛЫ, СОДЕРЖАЩИЕ ЧАСТИЦЫ НИТЕВИДНЫХ ГРИБОВ И ДИЗАЙН МЕМБРАННОГО БИОРЕАКТОРА

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННУЮ ЗАЯВКУ

В настоящей заявке испрашивается приоритет предварительной заявки на патент США 62/811,421, поданной 27 февраля 2019 г., которая полностью включена в настоящий документ посредством ссылки.

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

Эта заявка относится к съедобным нитевидным грибам и представляет способы приготовления съедобных грибов для применения в пищевых продуктах, жидких и твердых составах съедобных грибов, а также применения и способы, ассоциированный с ними, пищевые продукты, содержащие съедобные нитевидные грибы и их способы и применения.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

Организация Объединенных Наций оценивает количество населения в мире в 7,5 миллиардов в августе 2017 года, и предсказывает, что эта цифра вырастет до 8 миллиардов в 2023 и 10 миллиардов к 2056. В соответствующем докладе, по оценкам Продовольственной и сельскохозяйственной организации Организации Объединенных Наций (FAO), если к 2050 году население Земли достигнет 9,1 миллиарда человек, мировое производство продуктов питания должно вырасти на 70% и удвоиться в развивающихся странах. Это увеличение производства продуктов питания должно произойти, несмотря на рост затрат на энергию, сокращение подземных водных ресурсов, потерю сельскохозяйственных земель из-за разрастания городов и все более суровые погодные условия из-за изменения климата (например, повышения температуры, усиления засухи, усиления наводнений и т. д.). Это является особой проблемой для таких стран, как страны Африки, которые, согласно данным за 2009 год, уже имеют недостаточное потребление белка, и таких стран, как Китай, Индия, Пакистан и Индонезия, которые подвержены риску недостаточного потребления белка. Кроме того, прогнозируется, что к 2040 году мировой спрос вырастет на 60% на мясо и на 50% на молочные продукты.

Но не все источники белка одинаковы. Продукты питания животного происхождения (мясо, яйцо, молочные продукты) обеспечивают «полные» белки, поскольку они содержат все незаменимые аминокислоты; то есть метионин, лейцин, изолейцин, фенилаланин, валин, треонин, гистидин, триптофан и лизин. Пищевые продукты на основе растений, хотя и содержат некоторые незаменимые аминокислоты, обычно не имеют их полный набор. Например, в белке, содержащемся в крахмалистых корнях, не хватает незаменимой аминокислоты лизина, которую затем необходимо получать из другой пищи в рационе. Бобы и бобовые культуры содержат высокие уровни лизина, но они испытывают недостаток незаменимой аминокислоты метионина. Хотя

возможно построить полный белок сочетанием растительной пищи, обеспечить сбалансированное питание намного проще с полноценными белками.

Один не животный источник полноценного белка получают из съедобных нитевидных грибов, таких как *Fusarium venenatum* (ранее классифицированный и *Fusarium graminearum*). Однако, на сегодняшний день получение белка из этих источников потребовало значительных инвестиций в энергетические ресурсы и производственное оборудование, такое как капиталозатратные биореакторы и центрифуги. Сохраняется потребность в способах выращивания, сбора и производства продуктов питания, которые требуют низкого потребления энергии, потребляют мало природных ресурсов и имеют низкую стоимость. Настоящее изобретение решает эти проблемы.

Кроме того, одной из областей снижения логистики поставок, связанных с реагированием на стихийные бедствия, логистически изолированные среды или военные и/или космические/внеземные миссии, является замыканием петель жизнеобеспечения, в частности, потоков отходов, обеспечивая при этом критически для миссии продукты таких как питательные и аппетитные пищевые продукты, топливо, экспрессирующие метаболиты платформы, строительные материалы и/или микробные производства. Часто среды такого типа не имеют или имеют ограниченный доступ к стерильному оборудованию и/или требуют герметичной асептической системы для полного удержания потока отходов и/или производимых продуктов питания, топлива и материалов. Например, работа Европейского космического агентства (*Expeditions 25-28, Growth and Survival of Colored Fungi in Space (CFS-A)*) продемонстрировала, что грибы могут расти внутри космической станции и разлагать пищу и другие органические материалы во влажных условиях; здесь содержание грибной системы имеет первостепенное значение для предотвращения случайного загрязнения других материалов и поверхностей. Помимо необходимости разлагать пищу и отходы в развивающейся области космических путешествий, эти потребности также присутствуют при стихийных бедствиях, боевых военных операциях, операциях в дикой природе, ситуациях в третьем мире, где санитарная обработка и замораживание ненадежны, замкнутых пространствах, логистически сложных аренах и в некоторых сельскохозяйственных/промышленных операциях. Требуется автономная асептическая система, которая эффективно работает с минимумом пространства, энергии и поддержания.

Надежная и эффективная портативная автономная реакторная система биомат, которая способна преобразовать широкий спектр потоков отходов на множество ценных продуктов, решает эти проблемы. В настоящем описании описана простая асептическая биореакторная платформа, которая не требует перемешивания, активной аэрации, внешнего источника энергии во время ферментации (кроме контроля температуры), создает минимальные или не создает остатки отходов, требует небольшого количества воды и производит плотные, легко собираемые, текстурированные биоматы. Кроме того, автономная реакторная система биомат может быть портативной и/или масштабируемой для более крупных, более концентрированных миссий и/или популяций.

СУЩНОСТЬ ИЗОБРЕТЕНИЯ

Одним аспектом настоящего изобретения является представление пищевого материала, содержащего частицы нитевидных грибов, принадлежащих отряду, выбранному из группы, состоящей из Mucorales Ustilaginales, Russulales, Polyporales, Agaricales, Pezizales и Нуроскреales, где нитевидный гриб содержит более примерно 40% масс. белкового содержания и менее примерно 8% масс. РНК содержания.

В вариантах осуществления, нитевидные грибы могут принадлежать семейству, выбранному из группы, состоящей из Mucoraceae, Ustilaginaceae, Hericiaceae, Polyporaceae, Grifolaceae, Lyophyllaceae, Strophariaceae, Lycoperdaceae, Agaricaceae, Pleurotaceae, Physalacriaceae, Omphalotaceae, Tuberaceae, Morchellaceae, Sparassidaceae, Nectriaceae, *Bionectriaceae* и *Cordycipitaceae*.

В вариантах осуществления, нитевидные грибы могут принадлежать к виду, выбранному из группы, состоящей из *Rhizopus oligosporus*, *Ustilago esculenta*, *Hericululm erinaceus*, *Polyporous squamosus*, *Grifola fondrosa*, *Hypsizyugus marmoreus*, *Hypsizyugus ulmarius* (гипсизигус ильмовый) *Calocybe gambosa*, *Pholiota nameko*, *Calvatia gigantea*, *Agaricus bisporus*, *Stropharia rugosoannulata*, *Hypholoma lateritium*, *Pleurotus eryngii*, *Pleurotus ostreatus* (жемчужный), *Pleurotus ostreatus var. columbinus* (устричный гриб), *Tuber borchii*, *Morchella esculenta*, *Morchella conica*, *Morchella importuna*, *Sparassis crispa* (cauliflower), *Fusarium venenatum*, штамм МК7 (номер доступа в ATCC РТА-10698), *Disciotis venosa*, *Clonostachys rosea*, *Cordyceps militaris*, *Trametes versicolor*, *Ganoderma lucidum*, *Flammulina velutipes*, *Lentimula edodes*, *Pleurotus djamor*, *Pleurotus ostreatus* и *Leucoagaricus spp.*

В вариантах осуществления, нитевидный грибом может быть вид *Fusarium*.

В вариантах осуществления нитевидный грибом может быть *Fusarium venenatum*.

В вариантах осуществления, нитевидный грибом может быть штамм МК7 (номер доступа в ATCC РТА-10698).

В вариантах осуществления, нитевидный гриб может иметь характеристику, выбранную из группы, состоящей из (a) содержит более примерно 45% масс. белкового содержания; (b) содержит более примерно 50% масс. белкового содержания; (c) содержит более примерно 55% масс. белкового содержания; (d) содержит более примерно 60% масс. белкового содержания; (e) содержит менее примерно 5% масс. РНК содержания; (f) содержит менее примерно 4% масс. РНК содержания; (g) содержит менее примерно 3% масс. РНК содержания; (h) содержит менее примерно 2% масс. РНК содержания; и комбинации одного из a-d и одного из e-h.

В вариантах осуществления, нитевидный гриб может содержать менее чем примерно 10 ч./млн. микотоксина, выбранного из группы, состоящей из Альфатоксина В1, Альфатоксина В2, Альфатоксина G1, Альфатоксина G2, Фумонизина В1, Фумонизина В2, Фумонизина В3, Охратоксина А, Ниваленола, Деоксиниваленола, Ацетилдезоксиниваленола, Фузаренона Х, Т-2 токсина, НТ-2 токсина, Неосоланиола, Диацетоксисцирпенола зеараленона, боверицина, фузарина С, фузариновой кислоты и

любых их комбинаций.

Нитевидные грибы могут содержать менее примерно 10 ч./млн., или менее примерно 9 ч./млн., или менее примерно 8 ч./млн., или менее примерно 7 ч./млн., или менее примерно 6 ч./млн., или менее примерно 5 ч./млн., или менее примерно 4 ч./млн., или менее примерно 3 ч./млн., или менее примерно 2 ч./млн., или менее примерно 1 ч./млн., или менее примерно 0,9 ч./млн., или менее примерно 0,8 ч./млн., или менее примерно 0,7 ч./млн., или менее чем примерно 0,6 ч./млн. выбранного микотоксина или, альтернативно, менее примерно любой десятой ч./млн., равной или меньше 10 ч./млн. В конкретных вариантах осуществления, выбранным микотоксином может быть фумонизин или комбинация фумонизинов, боверицин, фузарин С, фузариновая кислота и их комбинации.

В вариантах осуществления, нитевидный гриб может иметь общее содержание микотоксинов менее примерно 10 ч./млн, или общее содержание микотоксинов менее примерно 9 ч./млн., или общее содержание микотоксинов менее примерно 8 ч./млн., или общее содержание микотоксинов менее примерно 7 ч./млн., или менее чем примерно 6 ч./млн. общего содержания микотоксинов, или менее чем примерно 5 ч./млн. общего содержания микотоксинов, или менее чем примерно 4 ч./млн. общего содержания микотоксинов, или менее чем примерно 3 ч./млн. общего содержания микотоксинов, или менее чем примерно 2 ч./млн. общего содержания микотоксинов, или менее примерно 1 ч./млн. общего содержания микотоксинов, или менее примерно 0,9 ч./млн. общего содержания микотоксинов, или менее примерно 0,8 ч./млн. общего содержания микотоксинов, или менее примерно 0,7 ч./млн. общего содержания микотоксинов, или менее примерно 0,6 ч./млн. общего содержания микотоксинов, или, альтернативно, менее примерно любой десятой ч./млн., равной или менее 10 ч./млн. общего содержания микотоксинов.

В вариантах осуществления, нитевидный гриб может содержать более примерно 15% масс. аминокислот с разветвленной цепью.

В вариантах осуществления, частицы нитевидных грибов могут быть в форме муки. Мука может, но не обязательно, иметь размер частиц в диапазоне от 30-400 микрон. Мука может, но не обязательно, иметь размер частиц не более примерно 400 микрон, не более примерно 390 микрон, не более примерно 380 микрон, не более примерно 370 микрон, не более примерно 360 микрон, не более примерно 350 микрон, не более примерно 340 микрон, не более примерно 330 микрон, не более примерно 320 микрон, не более 310 примерно микрон, не более примерно 300 микрон, не более примерно 290 микрон, не более примерно 280 микрон, не более примерно 270 микрон, не более примерно 260 микрон, не более примерно 250 микрон, не более примерно 240 микрон, не более примерно 230 микрон, не более примерно 220 микрон, не более примерно 210 микрон, не более примерно 200 микрон, не более примерно 190 микрон, не более примерно 180 микрон, не более примерно 170 микрон, не более примерно 160 микрон, не более примерно 150 микрон, не более примерно 140 микрон, не более примерно 130

микрон, не более примерно 120 микрон, не более примерно 110 микрон, не более примерно 100 микрон, не более примерно 90 микрон, не более примерно 80 микрон, не более примерно 70 микрон, не более примерно 60 микрон, не более примерно 50 микрон, не более примерно 40 микрон, не более примерно 30 микрон, не более примерно 20 микрон, не более примерно 10 микрон, не более примерно 9 микрон, не более примерно 8 микрон, не более примерно 7 микрон, не более примерно 6 микрон, не более примерно 5 мкм, не более примерно 4 мкм, не более примерно 3 мкм, не более примерно 2 мкм, или не более примерно 1 мкм, или, альтернативно, не более примерно любого целого числа микрон между примерно 1 микроном и около 400 микрон. Размер частиц может быть любым одним или несколькими из D_{10} размера частиц, D_{25} размера частиц, D_{50} размера частиц, D_{75} размера частиц, D_{90} размера частиц, или средневзвешенного размера частиц. В некоторых вариантах осуществления, практически все частицы могут иметь размер, по меньшей мере, примерно 30 микрон и не более примерно 400 микрон.

В вариантах осуществления, частицы могут иметь длину частицы от около 0,05 мм до около 500 мм, ширину частицы от около 0,03 мм до около 7 мм и высоту частицы от около 0,03 мм до около 1,0 мм. Частицы могут, но не обязательно, иметь длину частицы, ширину частицы и высоту частицы, все которые составляют более примерно 0,02 мм, более примерно 0,03 мм, более примерно 0,04 мм, более примерно 0,05 мм, более чем примерно 0,06 мм, более примерно 0,07 мм, более примерно 0,08 мм, более примерно 0,09 мм, более примерно 0,10 мм, более примерно 0,11 мм, более примерно 0,12 мм, более примерно 0,13 мм, более примерно 0,14 мм, более примерно 0,15 мм, более примерно 0,16 мм, более примерно 0,17 мм, более примерно 0,18 мм, более примерно 0,19 мм или более примерно 0,20 мм, или, альтернативно, более примерно любого целого числа микрон, которое составляет, по меньшей мере, примерно 20 мкм.

В вариантах осуществления, питательным веществом может быть жидкая дисперсия частиц нитевидных грибов. Жидкая дисперсия может, но не обязательно, быть получена в атмосфере азота. Жидкая дисперсия частиц нитевидных грибов может, но не обязательно, быть стабильной в течение, по меньшей мере, примерно 1 дня.

В вариантах осуществления, питательное вещество может быть веганским.

В вариантах осуществления, частицы нитевидных грибов могут быть единственным белковым компонентом, присутствующим в питательном веществе.

В вариантах осуществления частицы нитевидных грибов могут содержать все незаменимые аминокислоты. Частицы нитевидных грибов могут, но не обязательно, содержать, по меньшей мере, одну аминокислоту с разветвленной цепью, выбранную из группы, состоящей из лейцина, изолейцина и валина.

В вариантах осуществления, частицы нитевидных грибов могут быть нежизнеспособными.

Другим аспектом настоящего изобретения является предоставление йогуртного аналога пищевого продукта, содержащего частицы нитевидных грибов, принадлежащих отряду, выбранному из группы, состоящей из *Mucorales*, *Ustilaginales*, *Russulales*,

Polyporales, Agaricales, Pezizales и Hypocreales, где нитевидный гриб содержит более примерно 40% масс. белкового содержания и менее примерно 8% масс. РНК содержания.

В вариантах осуществления, нитевидный гриб может принадлежать семейству, выбранному из группы, состоящей из Mucoraceae, Ustilaginaceae, Hericiaceae, Polyporaceae, Grifolaceae, Lyophyllaceae, Strophariaceae, Lycoperdaceae, Agaricaceae, Pleurotaceae, Tuberaceae, Morchellaceae, Sparassidaceae, Physalacriaceae, Omphalotaceae, Nectriaceae, *Bionectriaceae* и Cordycipitaceae.

В вариантах осуществления, нитевидный гриб может принадлежать к виду, выбранному из группы, состоящей из *Rhizopus oligosporus*, *Ustilago esculenta*, *Hericulm erinaceus*, *Polyporous squamosus*, *Grifola fondrosa*, *Hypsizyugus marmoreus*, *Hypsizyugus ulmarius* (гипсизигус ильмовый) *Calocybe gambosa*, *Pholiota nameko*, *Calvatia gigantea*, *Agaricus bisporus*, *Stropharia rugosoannulata*, *Hypholoma lateritium*, *Pleurotus eryngii*, *Pleurotus ostreatus* (жемчужный), *Pleurotus ostreatus var. columbinus* (устричный гриб), *Tuber borchii*, *Morchella esculenta*, *Morchella conica*, *Morchella importuna*, *Sparassis crispa* (cauliflower), *Fusarium venenatum*, штамм МК7 (номер доступа в ATCC РТА-10698), *Disciotis venosa*, *Clonostachys rosea*, *Cordyceps militaris*, *Trametes versicolor*, *Ganoderma lucidum*, *Flammulina velutipes*, *Lentinula edodes*, *Pleurotus djamor*, *Pleurotus ostreatus* и *Leucoagaricus* spp.

В вариантах осуществления, нитевидным грибом может быть вид *Fusarium*.

В вариантах осуществления, нитевидным грибом может быть *Fusarium venenatum*.

В вариантах осуществления, нитевидным грибом может быть штамм МК7 (ATCC № доступа депозита РТА-10698).

В вариантах осуществления, нитевидный гриб может иметь характеристику, выбранную из группы, состоящей из (а) содержит больше, чем примерно 45% масс. белкового содержания; (b) содержит больше, чем примерно 50% масс. белкового содержания; (c) содержит больше, чем примерно 55% масс. белкового содержания; (d) содержит больше, чем примерно 60% масс. белкового содержания; (e) содержит менее чем около 5% масс. РНК содержания; (f) содержит менее примерно 4% масс. РНК содержания; (g) содержит менее чем около 3% масс. РНК содержания; (h) содержит менее чем примерно 2% масс. РНК содержания; и комбинации одного из a-d и одного из e-h.

В вариантах осуществления, соотношение частиц нитевидных грибов к воде может находиться в диапазоне от примерно 1:10 до примерно 10:1.

В вариантах осуществления, соотношение частиц нитевидных грибов к воде может быть выбрано из группы, состоящей из примерно 1:3, примерно 1:2, примерно 1:1 и примерно 2:1.

В вариантах осуществления, пищевой продукт-аналог йогурта может дополнительно содержать инвертный сахар.

В вариантах осуществления, пищевой продукт-аналог йогурта может дополнительно содержать загуститель.

В вариантах осуществления, клетки нитевидных грибов могут быть лизированы.

В вариантах осуществления, пищевой продукт-аналог йогурта может дополнительно содержать *Lactobacillus bulgaricus* и *Streptococcus thermophilus*.

В некоторых вариантах осуществления, продукт может быть веганским.

В вариантах осуществления, частицы нитевидных грибов могут содержать все незаменимые аминокислоты.

В вариантах осуществления, частицы нитевидных грибов могут быть единственным белковым компонентом.

В вариантах осуществления, частицы нитевидных грибов могут быть нежизнеспособными.

В вариантах осуществления, пищевой продукт-аналог йогурта может дополнительно содержать сычужный фермент. Сычужный фермент может, но не обязательно, быть получен из источника, выбранного из группы, состоящей из животного источника, вегетарианского источника и микробного источника. Сычужный фермент может, но не обязательно, быть получен из источника, выбранного из группы, состоящей из вегетарианского источника и микробного источника.

В вариантах осуществления, продукт может не содержать сухой молочный остаток.

В вариантах осуществления, пищевой продукт-аналог йогурта может дополнительно содержать пробиотик.

В вариантах осуществления, пищевой продукт-аналог йогурта может дополнительно содержать ферментативную воду.

Другим аспектом настоящего изобретения является предоставление вспененного материала, содержащего частицы биомата нитевидных грибов; и жидкую фазу, где содержание твердых веществ во вспененном материале составляет от примерно 5% до примерно 30%, и где пена является стабильной. Жидкая фаза может, но не обязательно, быть водной фазой, т.е. содержать воду.

В вариантах осуществления, вспененный материал может не разрушаться спонтанно сразу после прекращения процесса вспенивания во время его производства.

В вариантах осуществления, вспененный материал может быть стабильным в течение, по меньшей мере, примерно 7 дней.

В вариантах осуществления, вспененный материал может иметь взбитость, по меньшей мере, примерно 10%.

В вариантах осуществления, биомат нитевидных грибов может содержать виды *Fusarium*.

В вариантах осуществления, вспененный материал может не содержать сухой молочный остаток.

Другим аспектом настоящего изобретения является предоставление пищевого продукта, содержащего вспененный материал.

Другим аспектом настоящего изобретения является предоставление биореактора, содержащего контейнер; по меньшей мере, одну мембрану, расположенную внутри или на поверхности контейнера, где, по меньшей мере, одна мембрана содержит первую

поверхность и вторую поверхность; сырье для роста нитевидных грибов, контактирующее с первой поверхностью, по меньшей мере, одной мембраны; и инокулят нитевидных грибов, расположенный либо на первой поверхности, либо на второй поверхности, по меньшей мере, одной мембраны, где после культивирования инокулята в биореакторе биомат нитевидного гриба образуется на второй поверхности, по меньшей мере, одной мембраны после периода роста биомата. Используемый здесь термин «мембрана», если не указано иное, относится к любой гибкой или полугибкой огораживающей или разделяющей части, которая образует плоскость или пленку и разделяет две среды, и которая имеет сквозные поры, позволяющие обмениваться, по меньшей мере, части жидкости между двумя средами.

В вариантах осуществления, контейнером может быть пакет, в котором первая и вторая поверхности, по меньшей мере, одной мембраны являются первой и второй поверхностями, по меньшей мере, части пакета.

В вариантах осуществления, сырье может быть подвергнуто положительному или отрицательному давлению, создаваемому на стороне сырья, противоположной, по меньшей мере, одной из первой поверхности и второй поверхности, по меньшей мере, одной мембраны.

В вариантах осуществления, биореактор может дополнительно содержать цианобактерии, где цианобактерии обеспечивают, по меньшей мере, один из газообразного кислорода и углерода, чтобы способствовать росту биомата.

В вариантах осуществления, по меньшей мере, одно из следующих может быть верным: i) плотность биомата составляет, по меньшей мере, около 0,05 грамма на кубический сантиметр; и ii) плотность биомата после сушки составляет, по меньшей мере, примерно 0,01 грамма на кубический сантиметр.

В вариантах осуществления, биомат может содержать, по меньшей мере, один слой.

В вариантах осуществления, биомат может иметь прочность на разрыв, по меньшей мере, примерно 3 килопаскалей или, по меньшей мере, примерно 30 грамм-силы на квадратный сантиметр. Биомат может, но не обязательно, иметь прочность на разрыв, по меньшей мере, около 100 килопаскалей или, по меньшей мере, около 1,020 грамм-силы на квадратный сантиметр.

В вариантах осуществления, по меньшей мере, одна мембрана может содержать, по меньшей мере, один полимер, выбранный из группы, состоящей из полипропиленов, политетрафторэтиленов, поликарбонатов, полиамидов, ацетата целлюлозы, фторидов поливинилидена, смешанных эфиров целлюлозы, полиэфирсульфонов, полиэтиленов и полипирролов.

В вариантах осуществления, по меньшей мере, одна мембрана может содержать, по меньшей мере, один материал, выбранный из группы, состоящей из полипропиленовых полотен, политетрафторэтиленовых полотен и нейлонового сетчатого фильтра.

В вариантах осуществления, по меньшей мере, одна мембрана может содержать, по

меньшей мере, один из стекловолоконного материала и пористого керамического материала.

В вариантах осуществления, средний размер пор, по меньшей мере, одной мембраны может составлять от примерно 0,2 мкм до примерно 25 мкм. Средний размер пор, по меньшей мере, одной мембраны может, но не обязательно, составлять от примерно 5 мкм до примерно 11 мкм.

В вариантах осуществления, контейнер может быть закрытым и по существу воздухонепроницаемым, где контейнер включает пространство над газом, в котором растет биомат.

В вариантах осуществления, биомат может самопроизвольно отделяться, по меньшей мере, от одной мембраны.

В вариантах осуществления, когда биомат удаляют с, по меньшей мере, одной мембраны, новый инокулят нитевидных грибов может оставаться на, по меньшей мере, одной мембране.

В вариантах осуществления, нитевидные грибы могут принадлежать отряду, выбранному из группы, состоящей из Mucorales, Ustilaginales, Russulales, Polyporales, Agaricales, Pezizales и Hypocreales.

В вариантах осуществления, нитевидные грибы могут принадлежать семейству, выбранному из группы, состоящей из Mucoraceae, Ustilaginaceae, Hericiaceae, Polyporaceae, Grifolaceae, Lyophyllaceae, Strophariaceae, Lycoperdaceae, Agaricaceae, Pleurotaceae, Physalacriaceae, Omphalotaceae, Ophiocordycipitaceae, Tuberaceae, Morchellaceae и Cordycipitaceae.

[1] В вариантах осуществления, нитевидные грибы могут быть выбраны из группы, состоящей из штамма МК7 (номер доступа в ATCC РТА-10698), *Fusarium venenatum*, *Rhizopus oligosporus*, *Ustilago esculenta*, *Hericulum erinaceus*, *Polyporous squamosus*, *Grifola fondrosa*, *Hypsizygus marmoreus*, *Calocybe gambosa*, *Pholiota nameko*, *Calvatia gigantea*, *Agaricus bisporus*, *Stropharia rugosoannulata*, *Hypholoma lateritium*, *Pluerotus eryngii*, *Tuber borchii*, *Morchella esculenta*, *Morchella conica*, *Disciotis venosa*, *Ophiocordyceps sinensis* и *Cordyceps militaris*, *Trametes versicolor*, *Ganoderma lucidum*, *Flammulina velutipes*, *Lentinula edodes*, *Pleurotus djamor*, *Pleurotus ostreatus*, *Leucoagaricus holosericeus*, *Calvatia fragilis*, *Handkea utrifomis* и *Pholiota adiposa*.

В вариантах осуществления, сырье может включать, по меньшей мере, одно из фекалий животного и мочи животного. Животным может быть, но не обязательно, человек.

В вариантах осуществления, по меньшей мере, одна мембрана может быть единой композитной мембраной, где первая поверхность содержит первый материал, и вторая поверхность содержит второй материал.

В вариантах осуществления, по меньшей мере, одна мембрана может содержать, по меньшей мере, первую мембрану и вторую мембрану, где первой поверхностью является поверхность первой мембраны, и второй поверхностью является поверхность второй

мембраны. Первая и вторая мембрана может, но не обязательно, быть в физическом контакте друг с другом.

В вариантах осуществления, биореактор может дополнительно содержать селективную газопроницаемую мембрану, где первый газ, полученный в процессе роста биомата, селективно отделяется в газовое свободное пространство на первой стороне селективной газопроницаемой мембраны. Второй газ, образующийся в процессе роста биомата, может, но не обязательно, быть селективно отделен в газовое свободное пространство на второй стороне мембраны. В некоторых вариантах осуществления, газ, растворенный или диспергированный в жидком сырье, или иным образом расположенный на сырьевой стороне мембраны, может быть селективно отделен от исходного сырья и пропущен на противоположную сторону мембраны.

Другим аспектом настоящего изобретения является предоставление способа получения биомата нитевидных грибов, включающий инокуляцию нитевидных грибов в биореактор, где биореактор содержит контейнер; по меньшей мере, одну мембрану, расположенную внутри или на поверхности контейнера, где, по меньшей мере, одна мембрана имеет первую поверхность и вторую поверхность, где одна или обе из первой и второй поверхностей приспособлены для приема на них инокулята нитевидного гриба; и сырье для роста нитевидных грибов, контактирующее с первой поверхностью, по меньшей мере, одной мембраны.

В вариантах осуществления, контейнером может быть пакет, в котором первая и вторая поверхности, по меньшей мере, одной мембраны являются первой и второй поверхностями, по меньшей мере, части пакета.

В вариантах осуществления, сырье может подвергаться воздействию положительного или отрицательного давления, создаваемого на стороне сырья, противоположной первой поверхности, по меньшей мере, одной мембраны. Положительное или отрицательное давление может, но не обязательно, облегчить стадию инокуляции.

В вариантах осуществления, способ может дополнительно включать предоставление цианобактерий в биореакторе, где цианобактерии обеспечивают, по меньшей мере, один из газообразного кислорода и углерода, чтобы способствовать росту биомата.

В вариантах осуществления, по меньшей мере, одно из следующего может быть верно: i) плотность биомата после сбора составляет, по меньшей мере, примерно 0,6 грамма на кубический сантиметр; и ii) плотность биомата после сбора и сушки составляет, по меньшей мере, примерно 0,1 грамма на кубический сантиметр.

В вариантах осуществления, биомат может содержать, по меньшей мере, один слой.

В вариантах осуществления, во время или после стадии сбора, биомат может иметь прочность на разрыв, по меньшей мере, примерно 3 килопаскаля или, по меньшей мере, примерно 30 грамм-силы на квадратный сантиметр. Во время или после стадии сбора,

биомат может, но не обязательно, иметь прочность на разрыв, по меньшей мере, около 100 килопаскалей или, по меньшей мере, около 1,020 грамм-силы на квадратный сантиметр.

В вариантах осуществления, по меньшей мере, одна мембрана может содержать, по меньшей мере, один полимер, выбранный из группы, состоящей из полипропиленов, политетрафторэтиленов, поликарбонатов, полиамидов, ацетата целлюлозы, фторидов поливинилидена, смешанных сложных эфиров целлюлозы, полиэфирсульфонов, полиэтиленов и полипирролов.

В вариантах осуществления, по меньшей мере, одна мембрана может содержать, по меньшей мере, один материал, выбранный из группы, состоящей из полипропиленовых полотен, политетрафторэтиленовых полотен и нейлонового сетчатого фильтра.

В вариантах осуществления, мембрана может содержать, по меньшей мере, один из стекловолоконного материала и пористого керамического материала.

В вариантах осуществления, средний размер пор, по меньшей мере, одной мембраны может составлять от примерно 0,2 мкм до примерно 25 мкм. Средний размер пор, по меньшей мере, одной мембраны, может, но не обязательно, составлять от примерно 5 мкм до примерно 11 мкм.

В вариантах осуществления, контейнер может быть закрытым и по существу воздухонепроницаемым, где контейнер включает пространство над газом, в котором растет биомат.

В вариантах осуществления, биомат может самопроизвольно отделяться, по меньшей мере, от одной мембраны.

В вариантах осуществления, способ может дополнительно включать сбор биомата, где, когда биомат удаляют, по меньшей мере, с одной мембраны, новый инокулят нитевидных грибов остается, по меньшей мере, на одной мембране.

В вариантах осуществления, нитевидные грибы могут принадлежать отряду, выбранному из группы, состоящей из Mucorales, Ustilaginales, Russulales, Polyporales, Agaricales, Pezizales и Hypocreales.

В вариантах осуществления, нитевидные грибы могут принадлежать семейству, выбранному из группы, состоящей из Mucogaceae, Ustilaginaceae, Hericiaceae, Polyporaceae, Grifolaceae, Lyophyllaceae, Strophariaceae, Lycoperdaceae, Agaricaceae, Pleurotaceae, Physalacriaceae, Omphalotaceae, Tuberaceae, Morchellaceae и Cordycipitaceae.

В вариантах осуществления, нитевидные грибы могут быть выбраны из группы, состоящей из штамма МК7 (номер доступа в ATCC РТА-10698), *Fusarium venenatum*, *Rhizopus oligosporus*, *Ustilago esculenta*, *Hericium erinaceus*, *Polyporus squamosus*, *Grifola fondrosa*, *Hypsizygus marmoreus*, *Calocybe gambosa*, *Pholiota nameko*, *Calvatia gigantea*, *Agaricus bisporus*, *Stropharia rugosoannulata*, *Hypholoma lateritium*, *Pluerotus eryngii*, *Tuber borchii*, *Morchella esculenta*, *Morchella conica*, *Disciotis venosa*, *Ophiocordyceps sinensis* и *Cordyceps militaris*.

В вариантах осуществления, сырье может включать, по меньшей мере, одно из фекалий животного и мочи животного. Животным может, но не обязательно, быть

человек.

В вариантах осуществления, по меньшей мере, одна мембрана может быть единой композитной мембраной, где первая поверхность содержит первый материал, и вторая поверхность содержит второй материал.

В вариантах осуществления, по меньшей мере, одна мембрана может содержать, по меньшей мере, первую мембрану и вторую мембрану, где первой поверхностью является поверхность первой мембраны, и второй поверхностью является поверхность второй мембраны. Первая и вторая мембраны могут, но не обязательно, быть в физическом контакте друг с другом.

В вариантах осуществления, биореактор может дополнительно содержать селективную газопроницаемую мембрану, где первый газ, полученный в процессе роста биомата, селективно отделяется в газовое свободное пространство на первой стороне селективной газопроницаемой мембраны. Второй газ, образующийся в процессе роста биомата, может, но не обязательно, быть селективно отделен в газовое свободное пространство на второй стороне мембраны.

Другим аспектом настоящего изобретения является предоставление способа получения пресной воды, включающий инокуляцию нитевидных грибов в биореактор, где биореактор содержит контейнер; и сырье для роста нитевидных грибов; культивирование нитевидных грибов с образованием биомата на, по меньшей мере, одной поверхности исходного сырья и поверхности мембраны биореактора, где нитевидный грибок производит воду в качестве побочного продукта в процессе формирования или роста биомата; и сбор воды, полученной образованием или ростом биомата.

В вариантах осуществления, сырье может включать, по меньшей мере, одно из фекалий животного и мочи животного. Животным может, но не обязательно, быть человек.

В вариантах осуществления, способ может дополнительно включать рециркуляцию собранной воды в биореактор.

В вариантах осуществления, способ может дополнительно включать приготовление сырья, содержащего собранную воду. Способ может, но не обязательно, дополнительно включать рециркуляцию подготовленного сырья, содержащего собранную воду, в биореактор.

Другим аспектом настоящего изобретения является предоставление способа получения газа, включающего инокуляцию нитевидных грибов в биореактор, где биореактор содержит контейнер; и сырье для роста нитевидных грибов; культивирование нитевидных грибов с образованием биомата на, по меньшей мере, одной поверхности исходного сырья и поверхностью мембраны биореактора, где нитевидный грибок производит газ в качестве побочного продукта метаболизма в процессе роста биомата; и сбор газа, образованного при росте биомата.

В вариантах осуществления, газ может быть выбран из группы, состоящей из аммиака, видов аммиака, газообразного водорода и летучего сложного эфира.

Одним из аспектов настоящего изобретения является предоставление способа получения биомата нитевидных грибов, включающего (а) инокуляцию эффективного количества клеток, по меньшей мере, одного нитевидного гриба в первую аликвоту среды для выращивания для получения инокулированной среды для выращивания; (b) инкубирование инокулированной среды для выращивания в первый раз для получения исходного биомата; (с) удаление, по меньшей мере, части первой аликвоты среды для выращивания и добавление второй аликвоты среды для выращивания для получения обновленной среды для выращивания; и (d) инкубирование обновленной среды для выращивания во второй раз для получения готового биомата.

В вариантах осуществления, плотность сухой массы готового биомата может составлять, по меньшей мере, около 75 граммов на литр.

В вариантах осуществления, биомат может содержать более примерно 40% масс. белка и менее примерно 8% масс. РНК.

В вариантах осуществления, по меньшей мере, один нитевидный гриб может принадлежать отряду, выбранному из группы, состоящей из *Ustilaginales*, *Russulales*, *Polyporales*, *Agaricales*, *Pezizales* и *Hypocreales*.

В вариантах осуществления, по меньшей мере, один нитевидный гриб может принадлежать семейству, выбранному из группы, состоящей из *Ustilaginaceae*, *Hericiaceae*, *Polyporaceae*, *Grifolaceae*, *Lyophyllaceae*, *Strophariaceae*, *Lycoperdaceae*, *Agaricaceae*, *Pleurotaceae*, *Physalacriaceae*, *Omphalotaceae*, *Tuberaceae*, *Morchellaceae* и *Cordycipitaceae*.

В вариантах осуществления, по меньшей мере, один нитевидный гриб выбран из группы, состоящей из штамма МК7 (номер доступа в ATCC РТА-10698), *Fusarium venenatum*, *Ustilago esculenta*, *Hericulum erinaceus*, *Polyporous squamosus*, *Grifola fondrosa*, *Hypsizygyus marmoreus*, *Calocybe gambosa*, *Pholiota nameko*, *Calvatia gigantea*, *Agaricus bisporus*, *Stropharia rugosoannulata*, *Hypholoma lateritium*, *Pluerotus eryngii*, *Tuber borchii*, *Morchella esculenta*, *Morchella conica*, *Disciotis venosa*, *Ophiocordyceps sinensis* и *Cordyceps militaris*.

В вариантах осуществления, готовый биомат может иметь характеристику, выбранную из группы, состоящей из (а), содержит более примерно 45% масс. белкового содержания; (b) содержит более примерно 50% масс. белкового содержания; (с) содержит более примерно 55% масс. белкового содержания; (d) содержит более примерно 60% масс. белкового содержания; (е) содержит менее примерно 5% масс. РНК содержания; (f) содержит менее примерно 4% масс. РНК содержания; (g) содержит менее примерно 3% масс. РНК содержания; (h) содержит менее примерно 2% масс. РНК содержания; и (i) комбинации одного из a-d и одного из e-h.

В вариантах осуществления, готовый биомат может содержать менее чем примерно 10 ч./млн. микотоксина, выбранного из группы, состоящей из Альфатоксина В1, Альфатоксина В2, Альфатоксина G1, Альфатоксина G2, Фумонизина В1, Фумонизина В2, Фумонизина В3, Охратоксина А, Ниваленола, Дезоксиниваленола,

Ацетилдезоксиниваленола, Фузаренона Х, Т-2 токсина, НТ-2 токсина, Неосоланиола, Диацетоксисцирпенола, зеараленона, боверицина, фузарина С, фузариновой кислоты и любых их комбинаций.

В вариантах осуществления, готовый биомат может содержать менее примерно 10 ч./млн. общего содержания микотоксина.

В вариантах осуществления, готовый биомат может содержать менее примерно 5 ч./млн. общего содержания микотоксина.

В вариантах осуществления, готовый биомат может содержать более примерно 15% масс. аминокислот с разветвленной цепью.

Другим аспектом настоящего изобретения является предоставление биомата, по меньшей мере, одного нитевидного гриба, имеющего плотность сухой массы, по меньшей мере, около 75 граммов на литр.

В вариантах осуществления, биомат может содержать более примерно 40% масс. белка и менее примерно 8% масс. РНК.

В вариантах осуществления, по меньшей мере, один нитевидный гриб может принадлежать отряду, выбранному из группы, состоящей из Mucorales, Ustilaginales, Russulales, Polyporales, Agaricales, Pezizales и Hypocreales.

В вариантах осуществления, по меньшей мере, один нитевидный гриб может принадлежать семейству, выбранному из группы, состоящей из Mucoraceae, Ustilaginaceae, Hericiaceae, Polyporaceae, Grifolaceae, Lyophyllaceae, Strophariaceae, Lycoperdaceae, Agaricaceae, Pleurotaceae, *Physalacriaceae*, *Ophiocordycipitaceae*, Tuberaceae, *Morchellaceae*, Sparassidaceae, Nectriaceae, *Bionectriaceae* и Cordycipitaceae.

В вариантах осуществления, по меньшей мере, один нитевидный гриб выбран из группы, состоящей из *Rhizopus oligosporus*, *Ustilago esculenta*, *Hericulm erinaceus*, *Polyporous squamosus*, *Grifola fondrosa*, *Hypsizyugus marmoreus*, *Hypsizyugus ulmarius* (гипсизигус ильмовый) *Calocybe gambosa*, *Pholiota nameko*, *Calvatia gigantea*, *Agaricus bisporus*, *Stropharia rugosoannulata*, *Hypholoma lateritium*, *Pleurotus eryngii*, *Pleurotus ostreatus* (жемчужный), *Pleurotus ostreatus var. columbinus* (устричный гриб), *Tuber borchii*, *Morchella esculenta*, *Morchella conica*, *Morchella importuna*, *Sparassis crispa* (кудрявый), *Fusarium venenatum*, штамм МК7 (номер доступа в ATCC PTA-10698), *Disciotis venosa*, *Clonostachys rosea*, *Cordyceps militaris*, *Trametes versicolor*, *Ganoderma lucidum*, *Flammulina velutipes*, *Lentinula edodes*, *Pleurotus djamor*, *Pleurotus ostreatus* и *Leucoagaricus* spp.

В вариантах осуществления, биомат может иметь характеристику, выбранную из группы, состоящей из (a) содержит более примерно 45% масс. белкового содержания; (b) содержит более примерно 50% масс. белкового содержания; (c) содержит более примерно 55% масс. белкового содержания; (d) содержит более примерно 60% масс. белкового содержания; (e) содержит менее примерно 5% масс. РНК содержания; (f) содержит менее примерно 4% масс. РНК содержания; (g) содержит менее примерно 3% масс. РНК содержания; (h) содержит менее примерно 2% масс. РНК содержания; и (i) комбинации одного из a-d и одного из e-h.

В вариантах осуществления, биомат может содержать менее чем примерно 10 ч./млн. в микотоксина, выбранного из группы, состоящей из Альфатоксина В1, Альфатоксина В2, Альфатоксина G1, Альфатоксина G2, Фумонизина В1, Фумонизина В2, Фумонизина В3, Охратоксина А, Ниваленола, Дезоксиниваленола, Ацетил дезоксиниваленола, Фузаренона Х, Т-2 токсина, НТ-2 токсина, Неозоланиола, Диацетоксисцирпенола, зеараленона, фузарина С, фузариновой кислоты и любых их комбинаций.

В вариантах осуществления, биомат может содержать менее примерно 10 ч./млн. общего содержания микотоксинов.

В вариантах осуществления, биомат может содержать менее примерно 5 ч./млн. общего содержания микотоксинов.

В вариантах осуществления, биомат может содержать более примерно 15% масс. аминокислот с разветвленной цепью.

В вариантах осуществления, биомат может быть получен описанными в настоящем документе способами.

Другим аспектом настоящего изобретения является предоставление способа получения биомата нитевидных грибов, включающего инокуляцию нитевидных грибов в биореактор, где биореактор содержит контейнер; по меньшей мере, один сетчатый каркас, расположенный внутри или на поверхности контейнера, по меньшей мере, один сетчатый каркас, содержащий первую поверхность и вторую поверхность, где одна или обе из первой и второй поверхностей приспособлены для приема на них инокулята нитевидного гриба; и сырье для роста нитевидных грибов, контактирующее с первой поверхностью сетчатого каркаса.

В вариантах осуществления, сетчатый каркас может содержать нейлоновый материал.

Еще одним аспектом настоящего изобретения является предоставление культивированного пищевого продукта, содержащего частицы нитевидного гриба, принадлежащего отряду, выбранному из группы, состоящей из *Mucorales*, *Ustilaginales*, *Russulales*, *Polyporales*, *Agaricales*, *Pezizales* и *Hypocreales*, где нитевидный гриб содержит более примерно 40% масс. белкового содержания и менее примерно 8% масс. РНК содержания; и микробную пищевую культуру.

В вариантах осуществления, микробная пищевая культура может содержать молочнокислые бактерии.

Еще одним аспектом настоящего изобретения является предоставление способа получения культивированного пищевого продукта, включающего инокуляцию частиц нитевидного гриба с микробной пищевой культурой, где нитевидный гриб принадлежит отряду, выбранному из группы, состоящей из *Mucorales*, *Ustilaginales*, *Russulales*, *Polyporales*, *Agaricales*, *Pezizales* и *Hypocreales*, где нитевидный гриб содержит более примерно 40% масс. белкового содержания и менее примерно 8% масс. РНК содержания.

В вариантах осуществления, микробная пищевая культура может содержать

молочнокислые бактерии.

В вариантах осуществления, культивированные пищевые продукты, описанные в настоящем документе, могут быть получены способами приготовления культивированных пищевых продуктов, описанными в настоящем документе.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ ЧЕРТЕЖЕЙ

Фигура 1. Рост биомата штамма *Fusarium* МК7 в питательной среде, которая обновляется ежедневно после первоначальной 4-дневной стадии роста биомата.

Фигура 2. Трехсантиметровый биомат штамма *Fusarium* МК7, который образовался в жидкой питательной среде, которая обновляется ежедневно (после 4 дня). Показан нейлоновый сетчатый экран под биоматом, который используют для подъема и перемещения биомата в свежую среду.

Фигура 3. Система непрерывного потока, разработанная для непрерывной подпитки роста биомата штамма *Fusarium* МК7 и удаления питательных веществ из среды. Биоматы показаны в каналах через 7 дней роста с момента инокуляции.

Фигура 4. Рост биомата через 10 дней роста с момента инокуляции (6 дней в непрерывном потоке+4 дня в неподвижных/статических условиях).

Фигура 5. Полунепрерывное производство биомата, показывающее (А) удаление наиболее зрелой части биомата на 12 день. После сбора 1/3 наиболее зрелого биомата в нижнем конце лотка оставшийся биомат физически перемещают вниз по направлению стрелки, пока край биомата не коснется конца лотка (В). Перемещение биомата создает новое открытое пространство в верхнем конце лотка, где образуется новый биомат.

Фигура 6. Суммарное производство биомассы с течением времени с использованием полунепрерывного способа производства. Пунктирная линия является линией линейной регрессии с 5 по 19 день ($y=0,57x-1,52$, $r^2=0,973$). «Усы» означают стандартные отклонения среднего для трех репликатов лотков. «Усы» не видны, если они меньше символа точки данных.

Фигура 7. Непрерывное производство биомата, показывающее удаление наиболее зрелой части биомата справа. При непрерывном сборе наиболее зрелого биомата с правой стороны лотка, в левом конце лотка создается свежее открытое пространство, позволяющее образовываться новому биомату. Жидкая среда в лотке может пополняться и/или увеличиваться по мере необходимости или непрерывно.

Фигура 8. Оранжевый пигментация биоматов штамма *Fusarium* МК7 (два вырезанных диска справа) после облучения УФВ светом в течение четырех часов. Слева показаны два вырезанных диска из необлученных контрольных биоматов.

Фигура 9. Автоэлектронная сканирующая микроскопия 4-дневных биоматов штамма *Fusarium* МК7 (номер доступа в АТСС РТА-10698), полученных с использованием МК7-1 среды (как описано в РСТ/US2017/020050) с глицерином, кукурузным крахмалом и кукурузным экстрактом. На изображениях А, В и С показан биомат с внеклеточным матриксом (ЕСМ), удаленным промывкой этанолом. А) Вид верхней поверхности биомата с гифами воздушного мицелия. В) Поперечное сечение

плотного нижнего слоя со стрелкой, очерчивающей слой. Поперечное сечение получают разрезанием биомата бритвенным лезвием. Нижняя часть биомата показана в нижнем левом углу изображения, и плохо прилипающий переходный слой над плотным нижним слоем показан в верхнем правом углу. С) Вид нижней поверхности биомата. D) Вид нижней поверхности биомата с ЕСМ на месте (т. е. ЕСМ не удален промывкой этанолом).

Фигура 10. Изображения под микроскопом в проходящем свете (100x) биоматов, выращенных на глицерине, крахмале и кукурузном экстракте. Изображение слева от слоя гифов воздушного мицелия показывает преобладающую почти вертикальную ориентацию волокон. Изображение справа показывает плотный нижний слой и прилегающий переходный слой.

Фигура 11. Биоматы, полученные с применением описанного способа. А: гриб Рейши; В: гриб Жемчужный; С: гриб Устричный гриб; D: гриб Кудрявый; Е: гриб Гипсизигус ильмовый; F: гриб Головач гигантский.

Фигура 12. Рост биомата в инкапсулированном реакторе начинается, когда клетки прикрепляются к газопроницаемой мембране, где легко доступен кислород. Со временем биомат растет вниз и в конечном итоге заполняет пространство реактора, потребляя все жидкости и питательные вещества.

Фигура 13. Биоматы штамма *Fusarium MK7*, выращенные в течение пяти дней в статических условиях в чашках Петри, покрытых полупроницаемыми мембранами, сконструированными с (А)-(С) полипропиленом и (D) поликарбонатом. В чашке Петри практически не остается свободной жидкости, и все питательные вещества были включены в биомат. Пустой/жидкий объем реактора был по существу заполнен биоматом.

Фигура 14. Присоединенный пакет, отделенный от жидкой среды газопроницаемой мембраной, используют для подачи и улавливания газов. Встроенная многофункциональная мембрана позволяет вход кислорода и выход CO₂ и других образовавшихся газов. Грибная биомасса, выращенная в нижнем отсеке для жидкости (желтый), превращает сырье и питательные вещества в биомат, который заполняет отсек по мере своего роста. Плотный консолидированный биомат можно легко собрать, открыв систему закрытия реактора (например, типа Zip-lock®) и вынув из пакета.

Фигура 15. Базовый реактор (1). Показаны несколько каналов (4) с общими стенками/перегородками (9), передними клапанами (6) и обратными клапанами (8) и газопроницаемой мембраной (2).

Фигура 16. Основной герметичный реактор (1) с одной газосборной камерой (14).

Фигура 17. Основной герметичный реактор (1) с каналированными газосборными камерами (15, 20).

Фигура 18. Основной герметичный реактор (1) с каналированными газосборными камерами (15), имеющими газоспецифические каналы (30, 40) с газоспецифическими проницаемыми мембранами (2, 50).

Фигура 19. Основной герметичный реактор (1) с цилиндрическими каналами (4), стенками/перегородками (9), передними клапанами (6) и обратными клапанами (8) и

газопроницаемой мембраной (2).

Фигура 20. Анализ показателя преломления, плотности и размера частиц в разведенных 10-1000х образцах веганского молока, приготовленного с использованием нитевидных грибов.

Фигура 21. Структура веганского молока под оптическим микроскопом.

Фигура 22. График вязкости образца веганского молока от скорости сдвига.

Фигура 23. Обобщенная схема различных конфигураций биореакторов.

Фигура 24. Иллюстрация герметичного варианта осуществления биореактора конфигурации «1».

Фигура 25. Иллюстрация герметичного варианта осуществления биореактора конфигурации «4».

Фигура 26. Процесс роста биомата в пакетном реакторе.

Фигура 27. Иллюстрация герметичного варианта осуществления биореактора конфигурации «4».

Фигура 28. Иллюстрация биореактора, использующего « биомембрану».

Фигура 29. Примерная схема биореактора, включающего фотосинтезирующие цианобактерии.

Фигура 30. Иллюстрация биоматов, полученных в тесте сравнения сырья.

Фигура 31. Иллюстрации устраняющих противодействие биореакторов с непрерывной подачей.

Фигура 32. Иллюстрация роста биомата в реакторе с мембранным мешком из биопленки.

Фигура 33. Иллюстрация нейлоновой сетчатой фильтрующей мембраны.

Фигура 34. Сравнение биоматов, выращенных в светлых и темных условиях.

Фигура 35А. Иллюстрация биореактора с мембранной оболочкой (MEBR).

Фигура 35В. Врезка с фигуры 35А, иллюстрирующая деталь биореактора с мембранной оболочкой.

Фигура 36. Иллюстрация скорости роста биомата в лотках с освежаемой питательной средой и без нее.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ

В настоящем описании, термин «биомат», если не указано иное, относится к когезионной массе ткани нитевидных грибов, содержащей сеть переплетенных нитей грибницы. Биоматы, как этот термин используется в настоящем документе, могут, но не обязательно, характеризоваться одним или несколькими из плотности от примерно 50 до примерно 200 граммов на литр, содержанием твердых веществ от примерно 5% масс. до примерно 20% масс. и достаточной прочностью на разрыв, чтобы поднимать по существу в неизменном виде с поверхности среды для выращивания.

В настоящем документе, термин «внеклеточный матрикс», если не указано иное, относится к внеклеточному материалу, который, по меньшей мере, частично окружает нитевидную грибную структуру в биомате и защищает, поддерживает и/или изолирует

мицелий грибов биомата от окружающей среды. Внеклеточные матриксы, как этот термин используется в настоящем документе, обычно могут включать различные макромолекулы, включая, но не обязательно ограничиваясь ими, протеогликаны (например, сульфат гепарина, сульфаты хондроитина, сульфаты кератана), не-протеогликановые полисахариды (например, гиалуроновую кислоту) и белки (например, коллаген, эластин).

Съедобные нитевидные грибы могут применяться в качестве источника питания, такого как белок, отдельно или в составе пищевых продуктов.

Хотя плодовые тела нитевидных грибов Basidiomycota и Ascomycota используются в пищевых продуктах, есть лишь несколько продуктов, в первую очередь содержащих вегетативный мицелий и любой из нитевидных грибов Basidiomycota или Ascomycota. Частично это связано с тем, что мицелий обычно либо находится под землей, либо в значительной степени неотделим от вещества, на котором он растет.

Тем по меньшей мере, в конкретных условиях, нитевидные грибы могут образовывать грибные биоматы через поверхностную ферментацию в анаэробных, микроаэробных или аэробных условиях или их комбинации. Здесь биоматы нитевидных грибов включают виды и/или штамм грибов и/или их потомство, прежде всего в форме мицелия, фрагментов мицелия, гиф, фрагментов гиф и, в меньшей степени, содержат конидии, микроконидии, макроконидии или любые и все их комбинации, и в некоторых случаях, может также содержать пикниды, хламидоспоры и части внеклеточного матрикса.

Обычно биоматы нитевидных грибов в основном состоят из мицелия; то есть сложной сети переплетенных нитей вегетативных гиф. Средняя длина неразрывных нитей в биомате обычно составляет, по меньшей мере, 0,1 мм, например от 0,1 мм до 100 см, или в любом диапазоне, определяемом любыми двумя целыми числами от 1 мм до 100 см. В некоторых вариантах осуществления, средняя длина может составлять, по меньшей мере, 0,1 мм, 0,25 мм, 0,5 мм, 1,0 мм, 1,4 мм, 1,6 мм, 1,7 мм, 1,8 мм, 2 мм, 2,5 мм, 5 мм, 2 см, 3 см, 4 см, 5 см, 6 см, 7 см, 8 см, 9 см, 10 см, 15 см, 20 см, 25 см, 30 см, 35 см, 40 см, 45 см, 50 см, 55 см, 60 см, 65 см, 70 см, 75 см, 80 см, 85 см, 90 см, 85 см или 100 см, или любое число между ними.

В настоящем документе описаны пищевые материалы, содержащие частицы съедобных нитевидных грибов, и в частности те, которые выращиваются в виде биоматов перед переработкой в частицы.

Нитевидные грибы, подходящие для использования в настоящем изобретении (либо в виде биоматов, либо в виде частиц в пищевых материалах) могут быть выбраны из типов или отделов zygomycota, glomermycota, chytridiomycota, basidiomycota или ascomycota¹. Тип (или отдел) basidiomycota включают, *среди прочего*, отряды Agaricales, Russulales, Polyporales и Ustilaginales; тип ascomycota включает, *среди прочего*, отряды Pezizales и Hypocreales; и тип zygomycota включает, *среди прочего*, отряд Mucorales. Частицы съедобных нитевидных грибов по настоящему изобретению принадлежат отряду, выбранному из Ustilaginales, Russulales, Polyporales, Agaricales, Pezizales, Hypocreales и

Mucorales.

В некоторых вариантах осуществления, нитевидные грибы отряда Ustilaginales выбраны из семейства Ustilaginaceae. В некоторых вариантах осуществления, нитевидные грибы отряда Russulales выбраны из семейства Hericaceae. В некоторых вариантах осуществления, нитевидные грибы отряда Polyporales выбраны из семейств Polyporaceae или Grifolaceae. В некоторых вариантах осуществления, нитевидные грибы отряда Agaricales выбраны из семейств Lyophyllaceae, Strophariaceae, Lycoperdaceae, Agaricaceae, Pleurotaceae, Physalacriaceae или Omphalotaceae. В некоторых вариантах осуществления, нитевидные грибы отряда Pezizales выбраны из семейств Tubercaceae или Morchellaceae. В некоторых вариантах осуществления, нитевидные грибы отряда Mucorales выбраны из семейства Mucoraceae.

В некоторых вариантах осуществления нитевидные грибы, могут быть выбраны из родов *Fusarium*, *Aspergillus*, *Trichoderma* и *Rhizopus*.

Примеры видов нитевидных грибов включают, без ограничения, *Ustilago esculenta*, *Hericulum erinaceus*, *Polyporus squamosus*, *Grifola fondrosa*, *Hypsizygus marmoreus*, *Hypsizygus ulmarius* (гипсизигус ильмовый) *Calocybe gambosa*, *Pholiota nameko*, *Calvatia gigantea*, *Agaricus bisporus*, *Stropharia rugosoannulata*, *Hypholoma lateritium*, *Pleurotus eryngii*, *Pleurotus ostreatus* (жемчужный), *Pleurotus ostreatus* var. *columbinus* (Устричный гриб), *Tuber borchii*, *Morchella esculenta*, *Morchella conica*, *Morchella importuna*, *Sparassis crispa* (кудрявый), *Fusarium venenatum*, штамм MK7 (номер доступа в ATCC PTA-10698), *Disciotis venosa*, *Cordyceps militaris*, *Ganoderma lucidum* (рейши), *Flammulina velutipes*, *Lentinula edodes*, *Ophiocordyceps sinensis*. Дополнительные примеры включают, без ограничения, *Trametes versicolor*, *Ceriporia lacerate*, *Pholiota gigantea*, *Leucoagaricus holosericeus*, *Pleurotus djamor*, *Calvatia fragilis*, *Handkea utrifomis* и *Rhizopus oligosporus*.

В некоторых вариантах осуществления, нитевидным грибом является вид *Fusarium*. В некоторых вариантах осуществления, волокнистым грибом является штамм *Fusarium* MK7 (ATCC PTA-10698 депонирован в American Type Culture Collection, 1081 University Boulevard, Manassas, Virginia, USA). Ранее сообщалось, что штамм MK7 является штаммом *Fusarium oxysporum*. Тем по меньшей мере, он был впоследствии идентифицирован не как штамм *oxysporum*. В некоторых вариантах осуществления, нитевидным грибом является штамм *Fusarium venenatum*.

Как подробно описано в настоящем документе, нитевидные грибы по настоящему изобретению имеют удивительно высокое содержание белка. Следует отметить, что нитевидные грибы, которые растут естественным путем или в дикой природе или с помощью способов известного уровня техники не обладают таким высоким содержанием белка, в то время как нитевидные грибы выращенные или культивированные, как описано в настоящем документе, имеют высокое содержание белка, и, в частности, более высокое содержание белка, чем достигается в природе или, для некоторых грибов, способами ферментации известного уровня техники. Например, содержание белка в нитевидных грибах, описанных в настоящем документе, относится к содержанию белка в нитевидных

грибах, выращенных в биомате в соответствии с настоящим описанием. Следовательно, питательные вещества по настоящему изобретению имеют высокое содержание белка на основе компонентов веществ из нитевидных грибов без необходимости и/или при отсутствии содержания белка из источника, отличного от нитевидных грибов. Таким образом, в различных вариантах осуществления, питательные вещества по настоящему изобретению не содержат или в них отсутствует белковое содержание из источника, отличного от нитевидных грибов.

В некоторых вариантах осуществления, нитевидные грибы содержат, по меньшей мере, около 30% масс. белкового содержания. Если в настоящем документе не указано иное, доля компонентов, таких как белки, РНК или жиры, в биоматах или частицах нитевидных грибов дана в процентах от сухой массы. Например, биоматы могут быть высушены в течение 2 дней при 99°C и затем высушены на воздухе в течение нескольких дней, по истечении которых ожидается, что биоматы будут содержать около 5% масс. или менее влаги, например менее 4% масс., менее 3% масс., менее 2% масс., менее 1% масс., менее 0,5% масс., менее 0,1% масс. влаги. Общее содержание белка в образцах высушенного биомата может быть измерено с использованием способа анализа общего содержания азота для оценки белков.

В некоторых вариантах осуществления, нитевидные грибы содержат, по меньшей мере, примерно 30%, по меньшей мере, примерно 31% масс., по меньшей мере, примерно 32% масс., по меньшей мере, примерно 33% масс., по меньшей мере, примерно 34% масс., по меньшей мере, примерно 35% масс., по меньшей мере, примерно 36% масс., по меньшей мере, примерно 37% масс., по меньшей мере, примерно 38% масс., по меньшей мере, примерно 39% масс., по меньшей мере, примерно 40% масс., по меньшей мере, примерно 41% масс., по меньшей мере, примерно 42% масс., по меньшей мере, примерно 43% масс., по меньшей мере, примерно 44% масс., по меньшей мере, примерно 45% масс., по меньшей мере, примерно 46% масс., по меньшей мере, примерно 47% масс., по меньшей мере, примерно 48% масс., по меньшей мере, примерно 49% масс., по меньшей мере, примерно 50% масс., по меньшей мере, примерно 51% масс., по меньшей мере, примерно 52% масс., по меньшей мере, примерно 53% масс., по меньшей мере, примерно 54% масс., по меньшей мере, примерно 55% масс., по меньшей мере, примерно 56% масс., по меньшей мере, примерно 57% масс., по меньшей мере, примерно 58% масс., по меньшей мере, примерно 59% масс., по меньшей мере, примерно 60% масс. белкового содержания, по меньшей мере, примерно 61% масс., по меньшей мере, примерно 62% масс., по меньшей мере, примерно 63% масс., по меньшей мере, примерно 64% масс., по меньшей мере, примерно 65% масс., по меньшей мере, примерно 66% масс., по меньшей мере, примерно 67% масс., по меньшей мере, примерно 68% масс., по меньшей мере, примерно 69% масс., по меньшей мере, примерно 70% масс. белкового содержания, по меньшей мере, примерно 71% масс., по меньшей мере, примерно 72% масс., по меньшей мере, примерно 73% масс., по меньшей мере, примерно 74% масс., по меньшей мере, примерно 77% масс., по меньшей мере, примерно 76% масс., по меньшей мере, примерно

77% масс., по меньшей мере, примерно 78% масс., по меньшей мере, примерно 79% масс. или, по меньшей мере, примерно 80% масс. белкового содержания. Альтернативно, в вариантах осуществления изобретения, нитевидные грибы могут содержать белок в диапазоне от 30% масс. и 80% масс. или в любом диапазоне целых чисел от 30% масс. до 80% масс. См. примеры 21-23.

Нитевидные грибы по настоящему изобретению также имеют удивительно низкое содержание РНК. Было показано, что высокое количество РНК в пище оказывает неблагоприятное воздействие на здоровье или физиологические последствия. Например, диеты с высоким содержанием пуринов (присутствующих в РНК) связаны с заболеваемостью подагрой. Нитевидные грибы, выращенные или культивированные как описано в настоящем документе, имеют от природы низкое содержание РНК и не требуют дополнительного или сопутствующего лечения для модификации или снижения содержания РНК. Таким образом, в различных вариантах осуществления, питательные вещества по изобретению не содержат компоненты нитевидных грибов, которые имеют значительные уровни РНК и/или которые были обработаны с целью модификации или снижения содержания РНК в компонентах или питательных веществах. В других вариантах осуществления, будет понятно, что питательные вещества по настоящему изобретению, содержащие компоненты нитевидных грибов с низким природным содержанием РНК, могут быть обработаны, например, нагреванием или пропариванием для инактивации грибов, или другими способами обработки, которые также уменьшают или разрушают РНК, если бы она присутствовала. Такие вещества могут быть охарактеризованы как имеющие компоненты нитевидных грибов, которые имеют низкое содержание РНК, как описано в настоящем документе, до или без какого-либо такого снижения или разрушения РНК.

В некоторых вариантах осуществления, нитевидные грибы содержат менее примерно 8% масс. содержания РНК. % масс. содержания РНК дан в пересчете на сухой вес. Например, общее содержание РНК в высушенных образцах биомата может быть измерено с помощью способа анализа пурина. См. пример 24.

В некоторых вариантах осуществления, содержание РНК в нитевидных грибах составляет менее примерно 8,0% масс. РНК содержания, менее примерно 7% масс. РНК содержания, менее примерно 6% масс. РНК содержания, менее чем примерно 5,0% масс. РНК содержания, менее примерно 4% масс. РНК содержания, менее примерно 3% масс. РНК содержания, менее примерно 2% масс. РНК содержания или менее примерно 1% масс. РНК содержания или, альтернативно, менее, чем любой шаг приращения 0,1% масс, менее примерно 8,0% масс. Альтернативно, в вариантах осуществления изобретения, нитевидные грибы могут содержать РНК в диапазоне от 0,5% масс. до 8% масс. или любом его поддиапазоне.

В некоторых вариантах осуществления нитевидный гриб имеет высокое содержание белка в сочетании с низким содержанием РНК, как описано выше. Например, в некоторых вариантах осуществления нитевидный гриб может содержать более 45%

масс. белка, более 50% масс. белка, более 55% масс. Белка, или больше, чем 60% масс. белка и менее примерно 8% масс. РНК содержания, менее примерно 5% масс. РНК содержания, менее примерно 4% масс. РНК содержания, менее примерно 3% масс. РНК содержания или менее примерно 2% масс. РНК содержания. В других вариантах осуществления нитевидный гриб может иметь любое содержание белка, описанное выше, в сочетании с любым содержанием РНК, описанным выше.

Нитевидные грибы по настоящему изобретению и родственные питательные вещества также могут быть охарактеризованы как имеющие удивительно низкое содержание микотоксина. Известные микотоксины включают Альфатоксин В1, Альфатоксин В2, Альфатоксин G1, Альфатоксин G2, Фумонизин В1, Фумонизин В2, Фумонизин В3, Охратоксин А, Ниваленол, Дезоксиниваленол, Ацетил деоксиниваленол, Фузаренон Х, Т-2 токсин, НТ-2 токсин, Неосоланиол, Диацетоксицирпенол, боверицин, фузарин С, фузариновую кислоту и зеараленон. В некоторых вариантах осуществления, общее количество микотоксинов и/или общее количество любого из или подгруппы перечисленных выше микотоксинов в нитевидных грибах, биомате или питательном веществе по настоящему изобретению составляет менее примерно 10 ч./млн. В других вариантах осуществления, общее количество микотоксинов и/или общее количество любого из или подгруппы перечисленных выше микотоксинов составляет менее примерно 9 ч./млн., менее примерно 8 ч./млн., менее примерно 7 ч./млн., менее примерно 6 ч./млн., менее примерно 5 ч./млн., менее примерно 4 ч./млн., менее примерно 3 ч./млн., менее примерно 2 ч./млн., менее примерно 1 ч./млн., менее примерно 0,9 ч./млн., менее примерно 0,8 ч./млн., менее примерно 0,7 ч./млн., или менее примерно 0,6 ч./млн. См. пример 25.

Нитевидные грибы по настоящему изобретению также обладают удивительно высоким содержанием разветвленной аминокислоты. Разветвленные аминокислоты относятся к лейцину, изолейцину и валину. В некоторых вариантах осуществления, общее количество разветвленных аминокислот составляет более примерно 10% масс., более примерно 11% масс., более примерно 12% масс., более примерно 13% масс., более примерно 14% масс., более примерно 15% масс., более примерно 16% масс., более примерно 17% масс., более примерно 18% масс., более примерно 19% масс., более примерно 20% масс., более примерно 21% масс., более примерно 22% масс., более примерно 23% масс., более примерно 24% масс., более примерно 25% масс., более примерно 26% масс., более примерно 27% масс., более примерно 28% масс., более примерно 29% масс., более примерно 30% масс. В примере 23 указано содержание разветвленных аминокислот в типовом штамме МК7 и биоматах *Fusarium venenatum*. В примере 23 также показан профиль жирных кислот двух грибов.

Выращивание и сбор биоматов нитевидных грибов

Рост биоматов нитевидных грибов может осуществляться посредством поверхностной ферментации. Она включает в себя инокуляцию жидкой среды, содержащей источник углерода и источник азота клетками нитевидных грибов.

Подходящими источниками углерода являются сахара (например, сахароза, мальтоза, глюкоза, фруктоза, редкие сахара Японии и т. д.), сахарные спирты (например, глицерин, полиол и т. д.), крахмал (например, кукурузный крахмал и т. д.), производные крахмала (например, мальтодекстрин., циклодекстрин, сироп глюкозы, гидролизаты и модифицированный крахмал), гидролизаты крахмала, гидролизаты гидрогенизированного крахмала (HSH; например, сиропы гидрирогенизированной глюкозы, сиропы мальтита, сиропы сорбита и т. д.), лигноцеллюлозная пульпа или сырье (например, свекловичная пульпа, сельскохозяйственная пульпа, древесная пульпа, сушеная барда, отходы пивоварения и т. д.), кукурузный экстракт, кислая сыворотка, сладкая сыворотка, молочная сыворотка, пшеничный экстракт, углеводы, пищевые отходы, отходы переработки оливкового масла, гидролизат лигноцеллюлозных материалов и/или их комбинации. Нитевидные грибы образуют биоматы, которые расположены на поверхности среды для выращивания.

Жидкая среда для выращивания в соответствии с настоящим изобретением может характеризоваться желаемым или предварительно выбранным массовым отношением углерода к азоту («отношением C:N»). Как правило, отношение C:N в жидкой среде для выращивания согласно настоящему изобретению может иметь отношение C:N от примерно 1:1 до примерно 50:1, или от примерно 2,5:1 до примерно 30:1, или от примерно 5:1 до примерно 10:1, или между примерно любым отношением от 1:1 до 50:1 и примерно любым другим отношением от 1:1 до 50:1. В качестве неограничивающего примера среда для выращивания согласно настоящему изобретению может иметь отношение C:N примерно 2,5:1, примерно 5:1, примерно 7,5:1, примерно 10:1, примерно 12,5:1, примерно 15:1, примерно 17,5:1, примерно 20:1, примерно 22,5:1, примерно 25:1, примерно 27,5:1, примерно 30:1, примерно 32,5:1, примерно 35:1, примерно 37,5:1, примерно 40:1, примерно 42,5:1, примерно 45:1, примерно 47,5:1 или примерно 50:1, или, альтернативно, примерно в любом отношении в форме X:2, где X равно целому числу от примерно 2 до примерно 100.

Инокуляция может быть проведена с инокулятом, содержащим клетки планктонных нитевидных грибов, конидию, микроконидию или макроконидию, или споры, или плодовые тела. В многих случаях, особенно для грибов *Ascomycota*, среда для выращивания может быть инокулирована инокулятом, содержащим клетки планктонных нитевидных грибов, конидию, микроконидию или макроконидию. В идеале, клетки инокулята плавают на поверхности среды для выращивания, такой как клетки с высоким содержанием жиров, и приводят к повышенной скорости роста. Клетки или скопления клеток, которые погружают в среду для выращивания, могут негативно повлиять на клетки, плавающие на поверхности и биоматы, которые они образуют. В частности, биоматы, полученные из среды для выращивания, содержащей значительное количество скопившихся погруженных клеток, обычно обесцвечены и не имеют тенденции к росту гомогенно плотных матов.

В некоторых вариантах осуществления, инокулят может содержать споры.

Например, в одном варианте осуществления, приблизительно 2 см^3 стерильных спор Basidiomycota, суспендированных в деионизированной воде из спорового шприца (например, MycoDirect, Huntley, IL), используют для инокуляции приблизительно 75 мл среды для выращивания в небольших лотках Ругех. Альтернативно, 1 см^3 спор, суспендированных в деионизированной воде из спорового шприца, высевают на контейнер, имеющие среду с агаром с экстрактом солода+CF (30 г сухого экстракта солода, 20 г агара, 1000 мл воды+0,01% хлорамфеникола) с использованием стандартных стерильных условий. Контейнеры герметично закрывают парафильмом и инкубируют при комнатной температуре до тех пор, пока мицелий полностью не покроет поверхность агара. Затем сегмент мицелия из препарата агара шириной приблизительно 2 см нарезают на клинья, затем нарезают на кубики наименьшего возможного размера, затем переносят в пробирку со средой для выращивания. Пробирки с жидкой культурой герметично закрывают, инкубируют при комнатной температуре и встряхивают вручную или встряхивают механическими средствами (т.е. непрерывным встряхиванием или в корпусном реакторе с непрерывным перемешиванием) в течение примерно 1 минуты, по меньшей мере, пять (5) раз в день, чтобы максимально разрушить мицелий, насколько это возможно. Жидкие культуры инкубируют до визуального помутнения, обычно три или более дней. Затем жидкие культуры используют для инокуляции среды для выращивания в лотках в количестве 10% или 15% от общего объема среды для выращивания.

В некоторых вариантах осуществления, инокулят может содержать плодовые тела. Например, в некоторых вариантах осуществления, плодовые тела Basidiomycota применяют для создания инокулята для инициации нитевидных биоматов. В некоторых случаях, инокулят готовят с помощью (а) поверхностной стерилизации плодовых тел, например, в 5% растворе отбеливателя, (b) промывания стерильной средой, (c) измельчения в стерильных условиях до агрегатов длиной менее 5 мм или агрегатов размером более 5 мм, в зависимости от конечного использования, (d) поверхностной стерилизации измельченной биомассы грибов, например, в 5% растворе отбеливателя, и снова промыванием стерильной средой. 5 граммов измельченной биомассы поверхностно стерилизованных плодовых тел применяют непосредственно в качестве инокулята. В других случаях, используют чистую культуру, полученную из плодового тела. В этом случае, части плодового тела размером $\sim 3 \text{ мм}^3$ помещают на среду с агаром, содержащую 0,01% хлорамфеникола и инкубируют при комнатной температуре. Через 2-5 дней роста гифы переносят на свежий агар+среду с хлорамфениколом и выращивают в течение еще 3-7 дней. Чистоту культуры подтверждают экстракцией и очисткой ДНК (FastDNA Spin Kit, MP Biomedicals), секвенированием последовательности 18 S рРНК и/или области ITS и проведением филогенетической классификации последовательностей с использованием Blast (база данных NCBI). После подтверждения, гифы используют для инокуляции 50 мл стерильной жидкой среды и перемешивают/вращают со скоростью 185 об/мин в течение приблизительно 5 дней перед использованием в качестве инокулята при отношении примерно 7,5% инокулята к 92,5% жидкой среды.

Хотя можно применять множество различных сред, некоторые среды работают лучше, чем другие для выращивания биоматов нитевидных грибов; в качестве не ограничивающего примера, среда Хансена (на литр=1,0 г пептона, 0,3 г $\text{KH}_2\text{PO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 2,0 г $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 5,0 г глюкозы с отношением C:N 26,9) не дает полные, когезионные биоматы, в то время как среды, которые работают исключительно хорошо, включают МК7А, МК7-1, МК7-3 (все описаны в WO 2017/151684), а также среды, представленные ниже. Они также описаны в примере 12.

Солодовая среда 001 (соотношение C:N 19,1)

Ингредиент	Количество	Сорт
Светлый пльзеньский солод	40,0 г	Пищевой
Пептон	4,0 г	Для исследований
Порошок дрожжевого экстракта	1,2 г	Для исследований
Рапсовое масло	1,0 мл	Пищевой
Молотый овес	4,0 г	Пищевой
Водопроводная H_2O	1000 мл	Н/Д

МК-7 SF Среда (соотношение C:N 7,5)

Ингредиент	Количество	Сорт
NH_4NO_3	7,553 г	ACS
Мочевина	2,548 г	USP
CaCl_2	2,000 г	Реагент
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	2,000 г	USP
KH_2PO_4	7,500 г	Реагент
След*	2,000 мл	*
Глицерин	0,075 кг	Пищевой/USP
Дрожжевой экстракт	1,750 г	Для исследований
$\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0,020 г	Реагент
ДИ H_2O	0,940 л	Н/Д
Следовые компоненты*		
Микроэлементы*	мг/л	Сорт
$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	9,98	ACS
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	4,4	USP/FCC
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	1,01	Реагент
$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,32	Реагент
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0,31	Технический
$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0,22	ACS

НЗВОЗ	0,23	ACS
ЭДТК, свободная кислота	78,52	Электрофорез

Солодовая среда 001 с добавлением NH_4NO_3 (соотношение С:N 7,5)

Ингредиент	Количество	Сорт
NH_4NO_3	5,0 г	ACS
Светлый пльзеньский солод	40,0 г	Пищевой
Пептон	4,0 г	Для исследований
Порошок дрожжевого экстракта	1,2 г	Для исследований
Рапсовое масло	1,0 мл	Пищевой
Молотый овес	4,0 г	Пищевой
Водопроводная H_2O	1000 мл	Н/Д

Осмотические концентрации в виде осмоляльности могут быть определены измерением среды осмометром (например, Model 3250 SN: 17060594), способным измерять до 5000 мОсм/кг. Три значения берут для нескольких сред и получают следующие результаты: Хансен=39, 39, 38; Солодовая 001=169, 168, 169; МК-7 SF=1389, 1386, 1387; Солодовая 001+ NH_4NO_3 =288, 287, 286.

Как отмечалось ранее, способы по изобретению могут привести к увеличению белкового содержания, аминокислотного профиля (например, содержания аминокислот с разветвленной цепью) и/или содержания питательных веществ в нитевидных грибах. Не будучи связанными теорией, этот результат, как полагают, частично связан со средой, используемой для выращивания гриба.

Например, в то время как естественное содержание белка плодового тела грибов Устричного гриба (*Pleurotus ostreatus* var. *Columbinus*), как сообщается, составляет примерно 16,32% (Ulziijargal and Mau (2011) Int J Medicinal Mushrooms, 13(4):343-49) или 24,65% (Stamets (2005) Int J Medicinal Mushrooms 7:103-110), как показано в примере 12, биоматы Устричного гриба, выращенные в соответствии с настоящим изобретением на среде Солодовая 001, имеют более высокое содержание белка с поправкой на влажность 29,82%, увеличение белкового содержания 13,6% или 5,71%.

Сообщается, что содержание белка в плодовом теле грибов Устричной вешенки (*Pleurotus ostreatus*) составляет примерно 23,85% (Ulziijargal and Mau (2011) Int J Medicinal Mushrooms, 13(4):343-49) или 27,25% (Stamets (2005) Int J Medicinal Mushrooms 7:103-110); биоматы Устричной вешенки, выращенные в соответствии с настоящим изобретением, имеют более высокое содержание белка с поправкой на влажность 39,77%, увеличение белкового содержания от минимум 46% до максимум 67%.

Сообщается, что содержание белка в плодовом теле грибов Спарассис кудрявый (*Sparassis crispa*) составляет примерно 13,4% (Kimura (2013) BioMed Research International); биоматы Спарассиса кудрявого, выращенные в соответствии с настоящим изобретением, имеют более высокое содержание белка с поправкой на влажность от

32,21% до 46,24%, увеличение белкового содержания от минимум 140% до максимум 245%.

Другими характеристиками среды, которые, как полагают, являются важными для роста биоматов на поверхности ферментационной среды являются осмотическое давление и ионная сила среды. В некоторых вариантах осуществления, осмотическое давление среды для роста биоматов может быть больше примерно 3 атм, больше примерно 10 атм, больше примерно 20 атм, больше примерно 30 атм, больше примерно 40 атм, больше примерно 50 атм, больше примерно 60 атм, больше примерно 70 атм, больше примерно 80 атм, больше примерно 90 атм, больше примерно 100 атм, больше примерно 110 атм, больше примерно 120 атм, больше примерно 125 атм, или больше любого целочисленного значения атмосферы от более 3 атмосфер до более 125 атмосфер. В альтернативных вариантах, осмотическое давление может варьироваться от примерно 3 атм до примерно 125 атм, от примерно 20 атм до примерно 100 атм или между любыми двумя целыми числами атм от 3 до 125.

В некоторых вариантах осуществления, ионная сила среды, которая может использоваться для выращивания биоматов, может быть больше примерно 0,02 М, больше примерно 0,05 М, больше примерно 0,10 М, больше примерно 0,20 М, больше примерно 0,30 М, больше примерно 0,40 М, больше примерно 0,50 М, больше примерно 0,60 М, больше примерно 0,70 М, больше примерно 0,80 М, больше примерно 0,90 М, больше примерно 1,0 М, или больше любых сотых частей значения М от больше 0,02 М до больше 1,00 М. В альтернативных вариантах осуществления, ионная сила может варьироваться от примерно 0,02 М до примерно 1,0 М, от примерно 0,10 М до примерно 0,50 М или между любыми двумя числовыми значениями молярной концентрации от 0,01 до 1,0.

Сбор биоматов может происходить в любое время, когда образуется достаточно толстый биомат. Сбор обычно проходит через 2-3 дня роста, хотя в некоторых случаях желательны более длительные периоды роста, например, когда желательны/требуются более толстые или более плотные биоматы. Например, сбор может проходить после периода роста от 2 до 60 дней или любого диапазона дней или неполных дней (например, часов) от 2 дней до 60 дней. Например, такие периоды роста могут составлять 3,5-4 дня, 3-5 дней, 4-6 дней, 5-7 дней, 6-9 дней, 7-10 дней или 19-21 день, или, альтернативно, любое целое число дней до 21 дня включительно. Используемый в настоящем документе термин «сбор» относится к любому процессу или стадии, который останавливает рост биомата (например, отделение от источника питательных веществ или изменение температурных условий) и/или который изменяет физические характеристики биомата (например, преобразование биомата в частицы или полоски).

Благодаря когезионной структуре нитевидных биоматов, выращенных в условиях поверхностной ферментации, описанных в PCT/US2017/020050 и в настоящем документе, нитевидные биоматы обладают достаточной прочностью на разрыв, чтобы их можно было поднять практически целыми с поверхности среды в конце периода роста. В различных

вариантах осуществления, биоматы по изобретению могут иметь прочность на разрыв, по меньшей мере, примерно 30 г/см², по меньшей мере, примерно 40 г/см², по меньшей мере, примерно 50 г/см², по меньшей мере, примерно 60 г/см², по меньшей мере, примерно 70 г/см², по меньшей мере, примерно 80 г/см², по меньшей мере, примерно 90 г/см², по меньшей мере, примерно 100 г/см², по меньшей мере, примерно 150 г/см², по меньшей мере, примерно 200 г/см², по меньшей мере, примерно 250 г/см², по меньшей мере, примерно 300 г/см², по меньшей мере, примерно 350 г/см², по меньшей мере, примерно 400 г/см², по меньшей мере, примерно 450 г/см², по меньшей мере, примерно 500 г/см², по меньшей мере, примерно 550 г/см², или, по меньшей мере, примерно 600 г/см², или, по меньшей мере, примерно 650 г/см², или, по меньшей мере, примерно 700 г/см², или, по меньшей мере, примерно 750 г/см², или, по меньшей мере, примерно 800 г/см², или, по меньшей мере, примерно 850 г/см², или, по меньшей мере, примерно 900 г/см², или, по меньшей мере, примерно 950 г/см², или, по меньшей мере, примерно 1000 г/см², или, по меньшей мере, примерно 1500 г/см², или, по меньшей мере, примерно 2000 г/см², или, по меньшей мере, примерно 2500 г/см², или, по меньшей мере, примерно 3000 г/см², или минимум примерно 3500 г/см², или, по меньшей мере, t примерно 4000 г/см². В других вариантах осуществления, биоматы по изобретению могут иметь предел прочности на разрыв, превышающий любое целое число, превышающее 30 г/см². Альтернативно, предел прочности на разрыв биоматов по изобретению может находиться в диапазоне от примерно 30 г/см² до примерно 4000 г/см² или в любом диапазоне целых чисел от примерно 30 г/см² до примерно 4000 г/см². Подходящий способ измерения прочности на разрыв поясняется в примере 41.

В таблице 1А представлены некоторые примеры прочности на разрыв и других физических характеристик, измеренных для различных нитевидных грибов.

Таблица 1А - Средняя прочность на разрыв для некоторых биоматов нитевидных грибов

Организм	Источник углерода	Толщина (см)	Ширина (см)	Средняя масса разрыва (г)	Средний предел прочности (г/см ²)
Головач гигантский	Солод	0,13	1,2	47,12	314,13
	Глицерин	0,10-1,3	1,2	29,05	214,85
	МК7-1СФ	0,25-0,35	0,65-0,8	30,67	263,98
	Солод+NH ₄ N O ₃	0,09-0,10	0,9-1,1	27	281,15
Спарассис кудрявый	Солод	0,15-2,0	1,0-1,2	101,05	507,38

	Глицерин	0,09-0,20	1,2	202,17	242,91
Рейши	Солод	0,5	1,0-1,2	101,05	1854,54
Устричный гриб	Солод	0,5	1,2	43,40	72,74
	Глицерин	0,4	1,3	19,04	37,27
Устричная вешенка	Солод	0,5	1,0-1,2	56,7	98,96
Гипсизигус ильмовый	Солод	0,35	1,2	50,28	143,67
<i>F.</i> штамм МК7	Глицерин	0,5-0,8	1,0	>742	>570

Таблица 1В показывает дополнительные примеры прочности на разрыв и других физических характеристик, измеренных для различных нитевидных грибов, полученных с использованием других сред.

	Начальн ый рН	Конечный рН	Влажный вес, г	Сухой вес, г	Плотн ость г/см ³	Выхо д г/м ²	Предел прочност и на разрыв, г/см ²
C:N 5							
МК-7	3,3	6,2	0,4888	0,2953	0,48	483,33	333,33
<i>F.</i> <i>Venenatum</i>	4,5	6,15	0,3379	0,275	0,14	71,43	186,67
GPB	6	6,25	0,527	0,2708	0,21	144,76	562,96
C:N 7,5							
МК-7	3,3	7,2	0,827	0,4416	0,31	314,62	1454,55
<i>F.</i> <i>Venenatum</i>	4,5	4,81	0,57	0,3245	0,09	89,06	166,67
GPB	6	5,45	0,348	0,2851	0,08	38,41	1259,26
C:N 15							
МК-7	3,3	4,91	0,4833	0,257	0,07	92,31	191,11
<i>F.</i> <i>Venenatum</i>	4,5	3,49	0,3458	0,2734	0,16	63,81	800,00
GPB	6	2,74	0,3245	0,322	0,20	197,12	1559,23
C:N 30							

МК-7	3,3	2,36	0,2832	0,2774	0,10	103,64	426,67
F. Venenatum	4,5	3,29	0,323	0,3142	0,06	76,03	370,37
GPB	6	2,87	0,271	0,2688	0,17	134,91	833,33
C:N 40							
МК-7	3,3	2,81	1,3952	0,3638	0,05	156,09	312,12
F. Venenatum	4,5	2,97	0,5097	0,3637	0,43	215,95	3151,52
GPB	6	3,1	0,7196	0,3487	0,36	179,66	1040,00

В различных вариантах осуществления, биомат по настоящему изобретению может иметь толщину от примерно 0,05 см до, по меньшей мере, примерно 2 см.

В различных вариантах осуществления, биомат по настоящему изобретению может иметь ширину от примерно 0,6 см до примерно 3 метров. Обычно биомат, полученный в соответствии с настоящим изобретением, может иметь ширину, примерно равную ширине сосуда, в котором выращивают биомат.

Поверхностная ферментация может проводиться в различных условиях, включая условия статической среды (как описано в публикации PCT WO 2017/151684, которая полностью включена в настоящий документ посредством ссылки), условия полустатической среды и условия непрерывного потока среды. Некоторые варианты осуществления описаны в примерах 1-4.

Рост в условиях полустатической среды означает, что, по меньшей мере, часть среды заменяется перед сбором биомата нитевидных грибов. Эти условия позволяют линейное производство сухой биомассы в течение длительного периода времени, демонстрируя пригодность этой системы для работы в качестве системы непрерывного производства. Например, в одном эксперименте, линейное производство сухой биомассы достигается от дня 4 до дня 18 ($r^2=0,995$), после чего масса биомассы стабилизируется на уровне примерно 2,5 Кг сухой/м².

Биоматы также могут быть произведены в условиях непрерывного потока среды, когда рост биомата ограничен поверхностью среды для выращивания, где среда под слоем постоянно или полунепрерывно обновляется.

В некоторых случаях, однако, желательно собрать растущий биомат на полунепрерывной основе. Здесь, происходит удаление некоторой части биомата, и оставшуюся часть затем физически перемещают в открытое пространство среды, созданное удалением части биомата. Это может быть достигнуто путем физического захвата биомата и вытягиванием его, пока он не коснется конца контейнера поверхностной ферментации или с помощью других механических средств. Полученная открытая область затем становится доступной для роста нового биомата без отдельной или дополнительной стадии инокуляции, так как среда уже содержит жизнеспособные

клетки грибов. Этот процесс можно периодически повторять, что может быть особенно полезно при обновлении среды или повторном введении питательных веществ, которые стали ограниченными.

Сбор биомата также может проводиться на постоянной основе. Непрерывное удаление может быть облегчено множеством механизмов. Одним из таких примеров является роликовое колесо, которое прикрепляется к зрелому концу биомата (см. фигуру 7). Роликовое колесо медленно вращается и собирает зрелый биомат и, в то же время, создает открытую среду для роста нового биомата на другом конце контейнера поверхностной ферментации. В различных вариантах осуществления, сбор можно проводить со скоростью, по меньшей мере, примерно 0,1 см/день, 0,2 см/день, 0,3 см/день, 0,4 см/день, 0,5 см/день, 0,6 см/день, 0,7 см/день, 0,8 см/день, 0,9 см/день, 1,0 см/день, 1,1 см/день, 1,2 см/день, 1,3 см/день, 1,4 см/день, 1,5 см/день, 1,6 см/день, 1,7 см/день, 1,8 см/день, 1,9 см/день, 2,0 см/день, 2,1 см/день, 2,2 см/день, 2,3 см/день, 2,4 см/день или 2,5 см/день. Типовая скорость сбора составляет 1,56 см/день, хотя она может быть изменена для конкретных нужд или по желанию пользователя.

В некоторых случаях, УФВ свет (290-320 нм) может запускать производство пигмента нитчатými грибами, например, для штамма *Fusarium* МК7 (номер доступа ATCC РТА-10698), производя пигментированный биомат. Помимо изменения цвета, которое может быть полезно для создания различных пищевых эффектов, обработка УФВ превращает эргостерин, присутствующий в мембранах клеток грибов, в витамин D2 и увеличивает выработку каротиноидов, таких как бета-каротин и астаксантин. Следовательно, облучение нитевидных грибов, таких как штамм *Fusarium* МК7, УФВ можно использовать для увеличения содержания витамина D2 и каротиноидов в полученных биоматах.

В некоторых случаях, полученные биоматы нитевидных грибов состоят из слоя с которые являются однородными по внешнему виду, где одна поверхность нитевидного биомата находится в контакте с воздухом, и одна поверхность находится в контакте с синтетической средой. В других случаях, по меньшей мере, присутствуют два отдельных слоя: слой гифов воздушного мицелия на верхней поверхности и плотный многоклеточный нижний слой в контакте с синтетической средой. Часто присутствуют три отдельных слоя: (а) слой гифов воздушного мицелия на верхней поверхности, (b) плотный нижний слой, и (с) переходный слой между верхним и нижним слоями. Переходный слой может быть только неплотно прикреплен к плотному нижнему слою, в таких случаях позволяя легкое отделение нижнего слоя от остальной части биомата. Плотность нитей переходного слоя варьируется от немногим меньшей плотности, чем нижний слой в зоне, где встречаются эти два, до плотности, которая сравнима с гифами воздушного мицелия рядом с верхней частью биомата.

В некоторых вариантах осуществления, биомат может включать штамм МК7 (номер доступа в ATCC РТА-10698), *Fusarium venenatum*, *Rhizopus oligosporus*, *Morchella esculenta* (сморчок), *Morchella conica* (сморчок), *Morchella importuna* (сморчок), *Calvatia*

gigantea (головач гигантский), *Pleurotus ostreatus* (устричная вешенка), *Pleurotus ostreatus* var. *columbinus* (устричный гриб), *Sparassis crispa* (спарассис кудрявый), *Ganoderma lucidum* (Рейши), *Hypsizygus ulmarius* (гипсизигус ильмовый).

Инактивация биоматов нитевидных грибов

Хотя биомат можно ополаскивать для удаления излишков среды для выращивания, ополаскивание биомата не требуется, хотя в некоторых случаях предпочтительным является удаление среды для выращивания или излишков среды для выращивания. Аналогично, биомат можно отжать для удаления излишков среды для выращивания, что опять же не требуется, но может быть предпочтительным для некоторых применений.

Устранение жизнеспособности клеток и потенциала дальнейшего роста биомата желательно в некоторых случаях, например, для использования биомата в качестве единственного источника белка или белкового ингредиента в пищевых продуктах. Это может быть достигнуто путем нагревания, облучения, обработки этанолом и/или паром.

Что касается процесса нагревания, биоматы нитевидных грибов можно обрабатывать в соответствии с WO 95/23843 или британским патентом № 1,440,642, например, или инкубировать при температурах, которые разрушают подавляющее большинство РНК организма без отрицательного воздействия на белковый состав организма.

При облучении, биоматы нитевидных грибов подвергают воздействию ионизирующей энергии, такой как энергия, производимая радиоизотопами ^{60}Co (или, реже, ^{137}Cs), рентгеновскими лучами, генерируемыми машинами, работающими ниже номинальной энергии 5 МэВ, и ускоренными электронами, генерируемыми машинами, работающими ниже номинальной энергии 10 МэВ.

Пропаривание также может быть использовано для инактивации некоторых биоматов нитевидных грибов, таких, которые получают из *Fusarium* штамма МК7 (АТСС депозит No. РТА-10698) и *F. venenatum*, так как пар может также удалить некоторые специфические метаболиты из конструкции биомата, если эти метаболиты продуцируются. Здесь биоматы размещают так, что биомат выделяет жидкости, и конденсированный пар может легко стекать с биоматов. Подходящие системы удержания биоматов включают пористую пластиковую сетку и пористые лотки. Другие системы удержания биомата включают, но не ограничены ими, системы, которые фиксируют биомат в вертикальном положении, такие как системы с зажимным механизмом, который зажимает, по меньшей мере, один конец биомата, в то время как оставшийся конец(ы) биомата свисают с указанных зажимов, и сетчатые системы, которые зажимают, по меньшей мере, две стороны биомата, и это лишь некоторые из них.

Биоматы располагают внутри пропаривателя так, что нагретый пар, например, пар с температурой выше 85°C или 95°C, контактирует с биоматами. В тех случаях, когда несколько лотков расположены в одном пропаривателе, например, один лоток над другим, предпочтительно защищать более низко расположенный биомат от капель с расположенных более высоко биоматов. Защита должна иметь форму, позволяющую пару

контактировать с биоматами, тем самым деактивируя жизнеспособность биомата, а также отклонять выделяемые биоматом жидкости и конденсированный пар, образующийся на более высоком уровне в пропаривателе, от контакта с биоматами, расположенными на более низком уровне в пропаривателе. В одном варианте осуществления, для достижения этого результата между верхним и нижним лотками расположен конус. В других вариантах осуществления, разделение между верхними и нижними лотками, также включает в себя, по меньшей мере, одну другую геометрическую форму, такую как цилиндр, куб и/или параллелепипед, пирамида, сфера, торы и/или другие платоновы тела. В еще одном варианте осуществления, лотки разделяют с использованием, по меньшей мере, одного цилиндра, куба и/или параллелепипеда, пирамиды, сферы, тора, другого платонова тела, сетки, пористой ленты или их комбинаций.

Биоматы обрабатываю паром, по меньшей мере, до точки, когда жизнеспособность биомата снижается, так что дальнейший рост биомата и/или клеточное размножение в биомате становятся незначительными. Жизнеспособность биомата является функцией от исходной подложки, развития биомата, характеристик переноса пара/тепла, положения биомата в пропаривателе и ориентации биомата относительно выделяемого пара. Например, биоматы штамма *Fusarium* МК7, выращенные на субстрате на основе глицерина или кислой сыворотки, становятся нежизнеспособными через 5 минут, и в некоторых случаях, менее 5 минут обработки паром. Пропаренные слои могут быть промыты и/или выжаты для удаления выделений слоев и конденсированного пара.

Инактивированные пищевые биоматы нитевидных грибов могут применяться непосредственно в качестве источника белка, например, при приготовлении пищевых продуктов, в значительной степени сопоставимых с тофу, беконом и вяленым мясом, и это лишь некоторые из них.

Частицы биоматов нитевидных грибов

Размер инактивированных съедобных биоматов нитевидных грибов также может быть уменьшен для использования в качестве источника белка в пищевых продуктах. Уменьшение размера может происходить с помощью механических средств, таких как нарезка, измельчение, нарезание кубиками, раскрашивание, измельчение, смешивание и т. д., или обработкой ультразвуком, и проводится до смешивания с другими ингредиентами или жидкостями. Частицы уменьшенного размера могут быть одинаковыми по размеру или разными.

Обычно длина уменьшенных в размере частиц составляет 0,05-500 мм, ширина составляет 0,03-7 мм, и высота составляет 0,03-1,0 мм. Так, например, частицы типа муки, как правило, варьируются в диапазоне от 0,03 мм до 0,4 мм, частицы типа вяленого мяса варьируются в диапазоне от 100 мм до 500, и т.д. Могут быть получены более крупные частицы. Например, биоматы выращивают в надувных бассейнах (диаметром 66 дюймов), дающих единственный биомат диаметром 66 дюймов и полностью круглый. Сосуды большего размера могут применяться для выращивания слоев еще большего размера.

Количество частиц с уменьшенным размером, производимых на биомат, зависит от

начального размера биомата и цели, для которой будут использоваться частицы биомата с уменьшенным размером.

Крупные частицы

В некоторых вариантах осуществления, инактивированные биоматы съедобных нитевидных грибов уменьшены до частиц, где по меньшей мере, 50%, или, по меньшей мере, 60%, или, по меньшей мере, 70%, или, по меньшей мере, 80%, или, по меньшей мере, 90% частиц имеют длину частицы от примерно 0,05 мм до примерно 500 мм, ширину частицы от примерно 0,03 мм до примерно 7 мм, и высоту частицы от примерно 0,03 мм до примерно 1,0 мм, или, альтернативно, в любых поддиапазонах в пределах этих диапазонов. Например, по меньшей мере, 50%, или, по меньшей мере, 60%, или, по меньшей мере, 70%, или, по меньшей мере, 80%, или, по меньшей мере, 90% частиц могут иметь длину от примерно 0,08 мм до примерно 100 мм, или от 10 мм до примерно 70 мм или от 130 мм до примерно 200 мм; ширину частиц от примерно 0,05 мм до примерно 2 мм, или от примерно 1 мм до примерно 3 мм, или от примерно 4 мм до примерно 6 мм; и высоту частиц от примерно 0,03 мм до примерно 0,06 мм, или от примерно 0,04 мм до примерно 0,07 мм, или от примерно 0,08 мм до примерно 1,0 мм.

В некоторых вариантах осуществления, инактивированные съедобные биоматы нитевидных грибов уменьшены до частиц, где, по меньшей мере, 50%, или, по меньшей мере, 60%, или, по меньшей мере, 70%, или, по меньшей мере, 80%, или, по меньшей мере, 90% массы частиц имеют длину от примерно 0,05 мм до примерно 500 мм, ширину от примерно 0,03 мм до примерно 7 мм и высоту от примерно 0,03 мм до примерно 1,0 мм или, альтернативно, в любых поддиапазонах этих диапазонов. Например, по меньшей мере, 50%, или, по меньшей мере, 60%, или, по меньшей мере, 70%, или, по меньшей мере, 80%, или, по меньшей мере, 90% массы частиц могут иметь длину от примерно 0,08 мм до примерно 100 мм, или от 10 мм до примерно 70 мм, или от 130 мм до примерно 200 мм; ширину частиц от примерно 0,05 мм до примерно 2 мм, или от примерно 1 мм до примерно 3 мм, или от примерно 4 мм до примерно 6 мм; и высоту частиц от примерно 0,03 мм до примерно 0,06 мм, или от примерно 0,04 мм до примерно 0,07 мм, или от примерно 0,08 мм до примерно 1,0 мм.

Например, по меньшей мере, 50%, или, по меньшей мере, 60%, или, по меньшей мере, 70%, или, по меньшей мере, 80%, или, по меньшей мере, 90% частиц могут иметь длину от примерно 0,08 мм до примерно 100 мм, или от 10 мм до примерно 70 мм, или от 130 мм до примерно 200 мм; ширину частиц от примерно 0,05 мм до примерно 2 мм, или от примерно 1 мм до примерно 3 мм, или от примерно 4 мм до примерно 6 мм; и высоту частиц от примерно 0,03 мм до примерно 0,06 мм, или от примерно 0,04 мм до примерно 0,07 мм, или от примерно 0,08 мм до примерно 1,0 мм.

Такие частицы имитируют текстуру и разжевываемость мясных продуктов, таких как куриные наггеты или гамбургеры, и полезны при приготовлении таких продуктов, например, в качестве наполнителя или добавки для мясных продуктов, или их вегетарианских версий. В случае использования частиц по изобретению в качестве

наполнителя или добавки для мясного продукта, отношение частиц нитевидных грибов к мясу может находиться в диапазоне от 10:90 до 90:10 или в любом другом соотношении между ними.

Например, в некоторых вариантах осуществления, частицы нитевидных грибов содержат частицы, имеющие по меньшей мере, 90% частиц с длиной менее примерно 1,5 мм, причем большинство из них имеет длину 1 мм или менее, шириной менее примерно 1 мм, и высотой менее примерно 0,75 мм. Питательные вещества, содержащие такие частицы, характеризуются более высокой воспринимаемой плотностью во рту, их легче пережевывать, они создают ощущение сливочного вкуса во рту и делают пищу более изысканной, и такие частицы могут использоваться для приготовления пищевого материала, напоминающего бургер, который готовят в заведениях высокой кухни.

В некоторых вариантах осуществления, частицы нитевидных грибов содержат частицы, имеющие, по меньшей мере, примерно 90% частиц с длиной от примерно 4 мм до примерно 10 мм, шириной от примерно 1,0 мм до примерно 3 мм и высотой менее 0,75 мм. Было обнаружено, что пищевые продукты, содержащие такие частицы, дают более сытные ощущения от пищи, аналогичные тому типу бургеров, которые обычно готовят в ресторанах для гамбургеров или барбекю.

Мелкие частицы (мука)

В некоторых вариантах осуществления, инактивированные съедобные биоматы нитевидных грибов уменьшаются до мелких частиц. В некоторых вариантах осуществления, частицы нитевидного гриба имеют форму муки. В таких вариантах осуществления, размер частиц и распределение частиц по размеру могут быть такими же или аналогичными обычным для мукообразных материалов, таких как пшеничная или другая мука. В некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере, 50%, или, по меньшей мере, 60%, или, по меньшей мере, 70%, или, по меньшей мере, 80%, или, по меньшей мере, 90% частиц попадают в диапазон от 0,03 мм до примерно 0,4 мм или, альтернативно, в любой поддиапазон в этом диапазоне, такой как от примерно 0,03 мм до 0,07 мм, от примерно 0,07 мм до примерно 0,12 мм, от примерно 0,12 мм до примерно 0,15 мм, от примерно 0,15 мм до примерно 2,0, от примерно 0,04 мм до примерно 0,2 мм или от 0,06 мм до от примерно 0,120 мм или от 0,2 мм до примерно 0,4 мм. В некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере, 50%, или, по меньшей мере, 60%, или, по меньшей мере, 70%, или, по меньшей мере, 80%, или, по меньшей мере, 90% частиц попадают в диапазон от 0,075 мм до примерно 0,12 мм.

В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере, 50%, или, по меньшей мере, 60%, или, по меньшей мере, 70%, или, по меньшей мере, 80%, или, по меньшей мере, 90% массы частиц попадают в диапазон от 0,03 мм до примерно 0,4 мм или, альтернативно, в любом поддиапазоне в этом диапазоне, например, от примерно 0,03 мм до 0,07 мм, от примерно 0,07 мм до примерно 0,12 мм, от примерно 0,12 мм до примерно 0,15 мм, от примерно 0,15 мм до примерно 2,0, от примерно 0,04 мм до примерно 0,2 мм, или от 0,06 мм до примерно 0,120 мм, или от 0,2 мм до примерно 0,4 мм. В некоторых

вариантах осуществления по меньшей мере, 50%, или, по меньшей мере, 60%, или, по меньшей мере, 70%, или, по меньшей мере, 80%, или, по меньшей мере, 90% массы частиц попадают в диапазон от 0,075 мм до примерно 0,12 мм.

Уменьшение размера может быть выполнено с использованием мукомольной мельницы, измельчителя или другого обычного оборудования для уменьшения размера.

В некоторых вариантах осуществления, влажность порошкового материала по настоящему изобретению составляет менее примерно 15%, примерно 14%, примерно 13%, примерно 12%, примерно 11%, примерно 10%, примерно 9%, примерно 8%, примерно 7%, примерно 6%, примерно 5%, примерно 4%, примерно 3%, примерно 2% или примерно 1%. Низкий уровень влажности помогает предотвратить слипание частиц.

Такие частицы полезны при приготовлении пищевых продуктов, таких как выпечка, включая, помимо прочего, хлеб, булочки, кексы, торты, печенье, пироги и т. д. или могут применяться для обсыпки других продуктов питания.

Жидкая дисперсия (молоко)

Одним аспектом введения белка в пищевой продукт является использование жидкой дисперсии, полученной из биомата нитевидных грибов, в качестве ингредиента, заменяющего молоко или аналог молока. Жидкая дисперсия (также называемая в настоящем документе как «молоко») включает частицы биомата нитевидных грибов, диспергированные в водной среде.

Размер частиц биомата нитевидных грибов, подходящих для использования в жидких дисперсиях, обычно меньше примерно 10 микрон. В некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере, 50%, или, по меньшей мере, 60%, или, по меньшей мере, 70%, или, по меньшей мере, 80%, или, по меньшей мере, 90% частиц жидкой дисперсии попадают в диапазон от примерно 1 микрона до примерно 10 микрон, или, альтернативно, в любом поддиапазоне в этом диапазоне. В некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере, 50%, или, по меньшей мере, 60%, или, по меньшей мере, 70%, или, по меньшей мере, 80%, или, по меньшей мере, 90% частиц имеют размер менее 10 мкм, менее 9 мкм, менее 8 мкм, менее 7 мкм, менее 6 мкм, менее 5 мкм, менее 4 мкм, менее 3 мкм, менее 2 мкм или менее 1 мкм. В некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере, примерно 50%, или, по меньшей мере, примерно 60%, или, по меньшей мере, примерно 70%, или, по меньшей мере, примерно 80%, или, по меньшей мере, примерно 90% частиц могут иметь размер менее примерно 1 микрон.

Жидкая дисперсия или молоко может быть приготовлена объединением и смешиванием биомата нитевидных грибов с водной фазой, такой как вода. Перемешанная смесь может быть постепенно нагрета, например, до температуры кипения. Затем нагретой смеси дают остыть. В некоторых вариантах осуществления, жидкая дисперсия может быть получена в атмосфере азота. Этот процесс приводит к более кремовой консистенции жидкой дисперсии с меньшим запахом грибов. Производство в атмосфере азота может осуществляться барботированием азота в закрытом сосуде, так что азот заменяет большую часть доступного кислорода либо во время смешивания, например, с

Vitamix, либо в процессе высокоэнергетичного процесса измельчения или измельчения, либо в цикле нагревания. Примерный способ описан в примере 27.

Отношение биомата нитевидных грибов к воде можно корректировать для получения жидкой дисперсии соответствующей консистенции и плотности. Отношение биомата к воде может находиться в диапазоне от примерно 1:10 до примерно 10:1 или любой диапазон соотношений между ними. В некоторых вариантах осуществления, соотношение биомата к воде может составлять примерно 1:10, примерно 1:9, примерно 1:8, примерно 1:7, примерно 1:6, примерно 1:5, примерно 1:4, примерно 1:3, примерно 1:2, примерно 1:1, примерно 2:1, примерно 3:1, примерно 4:1, примерно 5:1, примерно 6:1, примерно 7:1, примерно 8:1, примерно 9:1, примерно 10:1.

В различных вариантах осуществления, жидкая дисперсия по изобретению является стабильной, так что частицы нитевидных грибов не легко отделяются от жидкой среды, в которой они диспергированы. Например, при образовании дисперсии образовавшаяся жидкость кажется однородной по внешнему виду и видимо не расслаивается на отдельные фазы. Например, никакого явно различимого или значительного осадка не образуется на дне контейнера, содержащего дисперсию. В некоторых вариантах осуществления, жидкая дисперсия остается стабильной в течение, по меньшей мере, примерно 1, 2, 3, 4, 5, 6, 9, 12, 15, 18, 21 или 24 часов или, альтернативно, она может оставаться стабильной в течение, по меньшей мере, примерно 1, 2, 3, 4, 5, 6 или 7 дней, или 1, 2, 3 или 4 недель, или 1, 2, 3, 4, 5 или 6 месяцев. В этих вариантах осуществления, дисперсия может иметь либо комнатную температуру, либо температуру охлаждения, например примерно 35°F (1,6°C).

Пример 26 иллюстрирует стабильность жидкой дисперсии, *т.е.* молока, по настоящему изобретению. Молоко стояло спокойно в холодильнике в течение 15 дней и 30 дней, и никакого видимого расслоения не наблюдалось в обоих образцах. Молоко также не демонстрировало ухудшения вкуса или запаха.

В некоторых вариантах осуществления, дисперсия содержит, по меньшей мере, примерно 4%, по меньшей мере, примерно 5%, по меньшей мере, примерно 6%, по меньшей мере, примерно 7%, по меньшей мере, примерно 8%, по меньшей мере, примерно 9%, по меньшей мере, примерно 10%, по меньшей мере, примерно 11%, по меньшей мере, примерно 12%, по меньшей мере, примерно 13%, по меньшей мере, примерно 14%, по меньшей мере, примерно 15%, по меньшей мере, примерно 16%, по меньшей мере, примерно 17%, по меньшей мере, примерно 18%, по меньшей мере, примерно 19%, по меньшей мере, примерно 20% твердых веществ. В других вариантах осуществления, жидкая дисперсия изобретения имеет содержание твердых веществ от примерно 4% до примерно 30% или в любом поддиапазоне от 4% до 30%.

Жидкая дисперсия может применяться в качестве напитка или безалкогольного напитка, в том числе в качестве заменителя любого молочного продукта, такого как молоко, миндальное молоко, рисовое молоко, соевое молоко и т. д. Она может применяться во многих рецептах, включая супы, мороженое, йогурт, смузи, помадку и

конфеты, такие как карамель и трюфели. В некоторых случаях, биоматы нитевидных грибов, полученные из разного сырья/источников углерода, дают жидкие дисперсии с разными ароматизаторами. Например, когда исходным сырьем/источником углерода является глицерин, полученная жидкая дисперсия, произведенная из штамма *Fusarium* МК7, слаще, в то время как жидкая дисперсия, полученная из штамма *Fusarium* МК7, выращенного на кислой сыворотке/источнике углерода, имеет тенденцию быть более кислой. Природная сладость или кислота нитевидных грибов, например, штамма *Fusarium* МК7, передается конечному пищевому продукту. Например, жидкие дисперсии кислой сыворотки подходят для йогурта, а жидкие дисперсии глицерина имеют тенденцию подходить для мусса, карамели или помадки.

В некоторых вариантах осуществления, жидкая дисперсия может быть использована для образования стабильной пены, поскольку она образует пену, которая не разрушается самопроизвольно сразу после прекращения процесса вспенивания. Процесс вспенивания может включать взбивание взбивателем, введение сжатых газов или другие обычные процессы вспенивания. Пена является гладкой и кремообразной по внешнему виду и показывает наличие пузырьков в распределении по размерам. Более крупные пузырьки имеют тенденцию лопаться после того, как они выстаиваются или переливаются, но более мелкие пузырьки остаются во взвешенном состоянии в течение длительного времени, образуя стабильный вспененный продукт. Вспененный продукт по настоящему изобретению имеет композиционные характеристики жидкой дисперсии и дополнительно содержит воздух или другой газ, стабильно включенный в пену. Например, вспененный продукт по изобретению может иметь увеличенный объем (*m. e.* взбитость) при введении воздуха, по меньшей мере, примерно 10%, по меньшей мере, примерно 20%, по меньшей мере, примерно 30%, по меньшей мере, примерно 40%, по меньшей мере, примерно 50%, по меньшей мере, примерно 75%, по меньшей мере, примерно 100%, по меньшей мере, примерно 200%, по меньшей мере, примерно 300%, по меньшей мере, примерно 400% или, по меньшей мере, примерно 500% по сравнению с начальным объемом жидкой дисперсии перед вспениванием. В различных вариантах осуществления, вспененный продукт стабилен в течение, по меньшей мере, примерно 1 дня, по меньшей мере, примерно 2 дней, по меньшей мере, примерно 3 дней, по меньшей мере, примерно 4 дней или, по меньшей мере, примерно 5 дней, по меньшей мере, примерно 6 дней, по меньшей мере, примерно 7 дней, по меньшей мере, примерно 8 дней, по меньшей мере, примерно 9 дней, по меньшей мере, примерно 10 дней, по меньшей мере, примерно 11 дней, по меньшей мере, примерно 12 дней, по меньшей мере, примерно 13 дней, по меньшей мере, примерно 14 дней или, по меньшей мере, примерно 15 дней, по меньшей мере, примерно 16 дней, по меньшей мере, примерно 17 дней, по меньшей мере, примерно 18 дней, по меньшей мере, примерно 19 дней, по меньшей мере, примерно 20 дней, по меньшей мере, примерно 21 день, по меньшей мере, примерно 22 дня, по меньшей мере, примерно 23 дня, по меньшей мере, примерно 24 дня или, по меньшей мере, примерно 25 дней, по меньшей мере, примерно 26 дней, по меньшей мере, примерно 27 дней, по меньшей мере,

примерно 28 дней, по меньшей мере, примерно 29 дней, по меньшей мере, примерно 30 дней. В некоторых вариантах осуществления, жидкая дисперсия остается стабильной в течение, по меньшей мере, примерно одного месяца, по меньшей мере, примерно двух месяцев или, по меньшей мере, примерно трех месяцев. В отношении пены, стабильность означает сохранение, по меньшей мере, примерно 50%, по меньшей мере, примерно 60%, по меньшей мере, примерно 70%, по меньшей мере, примерно 80%, по меньшей мере, примерно 90%, по меньшей мере, примерно 95% от ее первоначального вспененного объема.

В среднем взбитость примерно 12% является подходящей для приготовления мороженого (с большим содержанием жира и эмульгаторов), замороженного йогурта, смеси для чизкейков, взбитых топпингов и т.д. В некоторых вариантах осуществления, пена может включать в себя азот, чтобы обеспечить различные характеристики взбитости.

В некоторых вариантах осуществления, питательное вещество представляет собой культивированный пищевой продукт. В настоящем документе, если не указано иное, термин «культивированный пищевой продукт» относится к пищевому продукту, в котором микробные пищевые культуры, то есть живые бактерии, дрожжи или плесени, введены в нитевидные грибы. В качестве неограничивающего примера, грибные питательные вещества согласно настоящему изобретению могут быть культивированы с *Lactobacillus* spp. или другими молочнокислыми бактериями (для изготовления, например, пищевого продукта-аналога йогурта или другого пищевого продукта-аналога молочного продукта), *Saccharomyces cerevisiae* или другими дрожжами, используемыми в пивоварении или выпечке (для изготовления, например, пищевого продукта-аналога выпечки или пищевого продукта-аналога алкогольного напитка), плесневыми грибами, традиционно используемыми для изготовления колбас (например, *Penicillium chrysogenum* или *Penicillium nalgiovense*, для изготовления пищевого продукта-аналога колбасы) или соевых соусов (например, *Aspergillus oryzae* или *Aspergillus sojae*, для приготовления пищевого продукта-аналога соевого соуса), и так далее. В некоторых вариантах осуществления, культивированные пищевые продукты согласно настоящему изобретению могут быть культивированы с двумя или несколькими микробными пищевыми культурами, одновременно или последовательно, для получения аналога пищевого продукта, который получают путем ферментации двух или более микробных культур; в качестве неограничивающего примера, культивированные пищевые продукты в соответствии с настоящим изобретением могут включать в себя пищевые продукты-аналоги полутвердых сыров (изготовленные подверганием грибного продукта первому культивированию с *Lactobacillus* spp. или другими молочнокислыми бактериями и второму культивированию с дрожжами для созревания сыра), пищевые продукты-аналоги сыра с плесенью (изготовленные подверганием грибного продукта первому культивированию с *Lactobacillus* spp. или другими молочнокислыми бактериями и второму культивированию с плесенью, такой как *Penicillium roqueforti*), пищевые продукты-аналоги мягкого сыра (например, Бри или Камамбера) (изготовленные

подверганием грибного продукта первому культивированию с *Lactobacillus* spp. или другими молочнокислыми бактериями, и второму культивированию с *Penicillium camemberti*) и т.д.

В некоторых вариантах осуществления, питательное вещество содержит пищевой продукт-аналог йогурта, содержащий частицы биоматов нитевидных грибов по настоящему изобретению, диспергированные в водной среде. В некоторых вариантах осуществления аналога йогурта, отношение частиц нитевидных грибов к воде может варьироваться от примерно 1:10 до примерно 10:1. Ожидается, что более высокое отношение частиц нитевидных грибов к воде улучшит текстуру и уменьшит текучесть пищевого продукта-аналога йогурта. В некоторых вариантах осуществления, отношение частиц нитевидных грибов к воде может составлять примерно 1:3, 1:2, 1:1 или 2:1.

В некоторых вариантах осуществления, пищевой продукт-аналог йогурта содержит инвертный сахар или инвертированный сахар. Инвертный сахар устойчив к кристаллизации и способствует удержанию влаги, и используется в коммерческих целях в различных пищевых продуктах, таких как выпечка, кондитерские изделия, фруктовые консервы и напитки, для улучшения вкуса и текстуры и продления срока хранения. Примеры включают мед или смесь глюкозы и фруктозы, полученную гидролизом сахарозы и более сладкую, чем сахароза.

В некоторых вариантах осуществления, пищевой продукт-аналог йогурта содержит загущающий или желирующий агент. Такие агенты известны в данной области техники и включают, но не ограничиваются ими: агар, желатин, крахмалы (например, марантовый, тапиоковый, кукурузный, картофельный), жидкости с более высоким содержанием жира (кокосовое молоко), жир (например, кокосовые хлопья, дезодорированные или другие), воду из нута, семена льна, ксантановую камедь, гуаровую камедь, шелуху подорожника, молотые семена чиа, масло из орехов/семян, тыквенное пюре, вареное пюре из батата/сладкого картофеля, яблочное пюре, пюре из перезрелых бананов или плантанов, протертые финики или чернослив, замоченный и сваренный на медленном огне инжир, измельченные фрукты/овощи, измельченный кокос, безглютеновую муку (например, муку из тефа, гречневую муку, амарантовую муку, муку из нута, муку из сорго, миндальную муку), вареные протертые бобы, какао-порошок, овощные жевательные резинки, полисахариды, растительный клей, производные морских водорослей, пектин, глютен, аналоги сои и яиц. Загуститель может быть жиром, который может быть жидкостью, например кокосовым молоком, или твердым веществом, например дезодорированной кокосовой стружкой.

В некоторых вариантах осуществления, клетки нитевидных грибов лизируют, что высвобождает больше белка и приводит к увеличению плотности и потенциально большей биодоступности питательных веществ. Лизис может быть осуществлен любыми способами, известными в данной области техники, такими как обработка ультразвуком.

В некоторых вариантах осуществления, пищевой продукт-аналог йогурта содержит молочнокислые бактерии (LAB). Эти бактерии вырабатывают молочную кислоту в

качестве основного метаболического конечного продукта ферментации углеводов. Примеры LAB включают роды *Lactobacillus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Lactococcus* и *Streptococcus*. В некоторых вариантах осуществления, они включают бактерии *Lactobacillus bulgaricus* и/или *Streptococcus thermophilus*.

В некоторых вариантах осуществления, пищевой продукт-аналог йогурта дополнительно содержит сычужный фермент. Сычужный фермент может быть животного, вегетарианского или микробного происхождения. В вегетарианских или веганских пищевых продуктах, сычужный фермент получают из вегетарианского источника и/или микробного источника.

В некоторых вариантах осуществления, пищевой продукт-аналог йогурта дополнительно содержит ферментативную воду. Например, ферментативная вода может быть получена следующим образом. 100 г цельных семян ржи или твердых сортов пшеницы (или других подходящих злаковых семян) объединяют с 1 литром воды и проращивают в течение 2-4 часов. Когда семена начнут прорасти и появятся первые корни, семена помещают в чистую банку с 1 литром воды. Банку накрывают проницаемой тканью (льняной или хлопчатобумажной) и выдерживают при комнатной температуре в течение 24 часов, по истечении которых вода в банке изменит цвет и запах. Эта вода называется ферментативной и может использоваться при производстве йогурта и сыра.

В некоторых вариантах осуществления, пищевой продукт-аналог йогурта дополнительно содержит пробиотик. Пробиотики являются смесями живых микроорганизмов, таких как бактерии и дрожжи, которые приносят пользу для здоровья, в том числе улучшают пищеварение.

В некоторых вариантах осуществления, пищевой продукт-аналог йогурта содержит сухое молоко, полученное из молока животных. В некоторых вариантах осуществления, пищевой продукт-аналог йогурта не содержит сухое молоко, полученное из молока животных, то есть он не содержит какое-либо сухое молоко.

Следует четко понимать, что помимо пищевых продуктов-аналогов йогурта питательные вещества по настоящему изобретению могут включать любой один или несколько других пищевых продуктов-аналогов молочных продуктов. В качестве первого неограничивающего примера, питательные вещества по настоящему изобретению могут включать пищевой продукт-аналог сыра, такой как пищевой продукт-аналог твердого сыра (например, пармезана), пищевой продукт-аналог полутвердого сыра (например, гауды), пищевой продукт-аналог полумягкого сыра (например, хаварти), пищевой продукт-аналог мягкого или мягкого созревшего сыра (например, бри), пищевой продукт-аналог сливочного сыра, пищевой продукт-аналог кисломолочного сыра, пищевой продукт-аналог сыра с голубой плесенью, пищевой продукт-аналог сыра маскарпоне, пищевой продукт-аналог сыра паста филата (например, моцареллы), пищевой продукт-аналог соленого сыра (например, феты), пищевой продукт-аналог сывороточного сыра (например, рикотты или бруноста) или пищевой продукт-аналог молодого сыра (например, творога). В качестве второго неограничивающего примера, питательные

вещества по настоящему изобретению могут включать пищевой продукт-аналог сливочного масла, такой как пищевой продукт-аналог сливочного масла, пищевой продукт-аналог молочного жира, пищевой продукт-аналог топленого масла, пищевой продукт-аналог сывороточного масла, пищевой продукт-аналог культивированного масла, пищевой продукт-аналог кисломолочного масла, пищевой продукт-аналог сладкосливочного масла или пищевой продукт-аналог традиционной пахты. В качестве третьего неограничивающего примера, питательные вещества по настоящему изобретению могут включать пищевой продукт-аналог сыворотки, такой как пищевой продукт-аналог кислой сыворотки или пищевой продукт-аналог сладкой сыворотки. В качестве четвертого неограничивающего примера, питательные вещества по настоящему изобретению могут содержать пищевой продукт-аналог крема, такой как пищевой продукт-аналог *crème Fraîche*, пищевой продукт-аналог сметаны, пищевой продукт-аналог сметаны, пищевой продукт-аналог смеси молока и сливок, пищевой продукт-аналог столовых сливок, пищевой продукт-аналог взбитых сливок, пищевой продукт-аналог двойных сливок, пищевой продукт-аналог варенца, пищевой продукт-аналог кислых сливок, пищевой продукт-аналог пастеризованных сливок или пищевой продукт-аналог сгущенных сливок. В качестве пятого неограничивающего примера, питательные вещества по настоящему изобретению могут включать пищевой продукт-аналог кислого молока, такой как пищевой продукт-аналог творога, пищевой продукт-аналог сырной массы, пищевой продукт-аналог кислого молока, пищевой продукт-аналог кефира, пищевой продукт-аналог органического йогурта или мягкого йогурта, пищевой продукт-аналог йогурта, пищевой продукт-аналог сливочного йогурта или пищевой продукт-аналог сквашенной пахты. В качестве шестого неограничивающего примера, питательные вещества по настоящему изобретению могут включать пищевой продукт-аналог молока, такой как пищевой продукт-аналог сырого молока, пищевой продукт-аналог сырого молока с низким содержанием жира или обезжиренного молока, пищевой продукт-аналог пастеризованного молока, пищевой продукт-аналог свежего цельного молока, пищевой продукт-аналог молока с низким содержанием жира, пищевой продукт-аналог обезжиренного молока, пищевого продукт-аналог молока с увеличенным сроком годности (ESL), пищевого продукт-аналог молока, обработанного при ультра-высокой температуре (UHT), пищевой продукт-аналог стерилизованного молока, пищевой продукт-аналог сгущенного или выпаренного молока, пищевой продукт-аналог сгущенного молока с частичным обезжириванием или пищевой продукт-аналог сгущенного обезжиренного молока. В качестве седьмого неограничивающего примера, питательные вещества по настоящему изобретению могут включать пищевой продукт-аналог сухого молока, такой как пищевой продукт-аналог порошковой сыворотки, пищевой продукт-аналог сухого молока или пищевой продукт-аналог сухого обезжиренного молока. Пищевые продукты-аналоги молочных продуктов согласно настоящему изобретению могут, в вариантах осуществления, быть веганскими пищевыми продуктами, то есть пищевыми продуктами, не содержащими продуктов животного происхождения, и, таким образом, позволяют

приверженцам веганской диеты включать такие молочные аналоги в свой рацион.

Частицы биомата нитевидных грибов могут быть добавлены в качестве белка или другого источника питательных веществ для увеличения питательного содержания пищевого продукта, или могут быть, например, единственным белковым компонентом. Для пищевых продуктов, состоящих полностью из биоматов нитевидных грибов, или частиц таких биоматов пониженного размера, частицы могут быть оптимизированы для конкретных текстур, вкусовых ощущений и разжевываемости. Возможность изменять текстуру, вкусовые ощущения и разжевываемость позволяет адаптацию под требование заказчика для снабжения индивидуумов, имеющих особые диетические потребности, например, тех, которые имеют проблемы с пережевыванием, или которые требуют/желают более мягкую пищу, но при этом обеспечивающую те же питательные и вкусовые ощущения, или тех, кто хочет пищу с большей текстурой, большими вкусовыми ощущениями и большим пережевыванием. Благодаря возможности легко контролировать размер частиц, продукты, дополненные биоматами нитевидных грибов или сделанные исключительно из биоматов нитевидных грибов, имеют текстуры, очень похожие на стандартные белковые продукты, которые они имитируют, как видно из таблицы 2.

Таблица 2. Результаты из анализатора текстуры Stable Micro Systems TA XT plus

Продукт	Средняя максимальная твердость	Средняя площадь (г/мм)	Средняя величина (г)	Параметры
Рыбная палочка				Скорость перед тестированием: 2,00 мм/с
Коммерческая рыбная палочка	3654 ± 1774	17868 ± 5674	894 ± 284	Скорость тестирования: 4,00 мм/с Скорость после тестирования:
Рыбная палочка МК7	1618 ± 180	19990 ± 610	1000 ± 100	10,00 мм/сек Целевой режим: расстояние
Наггет				Сила: 100,0 г
Коммерческий куриный наггет	3838 ± 56,8	27329 ± 3663	1367 ± 183	Расстояние: 20,000 мм Напряжение: 10,0% Тип запуска: Автоматический
Куриный наггет Quorn	4013 ± 1066,3	27751 ± 1346,4	1415 ± 111,4	(Сила) Сила запуска: 5,0 г
МК7 малая частица	3127 ± 19,7	33065 ± 3458	1654 ± 173	Зонд: HDP/WBV Щелевое лезвие Warner Bratzler
МК7 средняя	2514 ± 663	27217 ±	1361 ± 322	V

частица		6437		
МК7 большая частица	3461 ± 77,8	34591 ± 2971,2	1730 ± 14,6	
Бургер				
100% говяжий бургер	4326 ± 714	12350 ± 46,1	1727 ± 14,1	
90% говядины, 10% МК7	5011	14048	1929 г.	
80% говядины, 20% МК7	2615 ± 199	10641 ± 511	1456 ± 46	
70% говядины, 30% МК7	2240 ± 262	9859 ± 2947	1291 ± 300	
60% говядины, 40% МК7	2094 ± 156	8118 ± 1088	1155 ± 180	
100% МК7, измельченны й (высокая степень переработки)	2228 ± 1988	5079 ± 964	1089 ± 70,6	
Продукт	Твердость (г)			
Шоколадны й мусс				Скорость перед тестированием: 1,00 мм/с Скорость тестирования: 1,00 мм/с Скорость после тестирования: 10,00 мм/сек
Шоколадный мусс Nestle	182,45			Целевой режим: расстояние Т.А. переменная №: 5: 0,0 г Расстояние: 10.000 мм
МК7 шоколадный мусс	135,09			

				Напряжение: 10,0% Тип запуска: Автоматический (Сила) Сила запуска: 5,0 г Зонд: P/25; 25 мм DIA Цилиндр Алюминий
--	--	--	--	--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------

Частицы биоматов нитевидных грибов могут быть использованы в качестве единственного белкового компонента в питательном веществе или могут быть использованы для увеличения белкового содержания в других питательных веществах. Примеры продуктов, которые могут быть получены с использованием только уменьшенных частиц биомата нитевидных грибов, с добавлением или без добавления ароматизаторов, включают, без ограничения, мясоподобные вегетарианские или веганские продукты (например, говяжий фарш, куриный фарш, фарш из индейки, куриные наггетсы, рыбные палочки или котлеты, вяленое мясо), закуски (например, чипсы), супы, коктейли, напитки, аналоги молока, хлеб, макаронные изделия, лапшу, пельмени, кондитерские изделия (например, Pate a Choux), печенье, торты, пироги, десерты, замороженные десерты, аналоги мороженого, йогурт, карамель и конфеты.

Продукты с добавлением уменьшенных частиц биомата нитевидных грибов могут значительно увеличить содержание белка, что особенно важно для людей, придерживающихся веганской диеты. Так, например, супы, напитки или коктейли могут быть дополнены жидкой дисперсией штамма МК7.

Если частицы биомата пониженного размера применяют для увеличения белкового содержания в пище или применяют в качестве единственного белкового компонента, в некоторых случаях, связующие вещества полезны в достижении желаемой текстуры. Подходят одобренные связующие агенты для пищевых продуктов, такие, как яичный белок, глютен, мука из нута, вегетарианские связующие агенты, маранта, желатин, пектин, гуаровая камедь, каррагинан, ксантановая камедь, сыворотка, нутовая вода, семена льна, заменитель яиц, мука, агар-агар, семена чиа, псиллиум и т.д., которые можно использовать по отдельности или в комбинации. В дополнение к связующим агентам для пищевых продуктов, частицы биомата нитевидных грибов уменьшенного размера могут также быть смешаны с одобренными ароматизаторами, специями, усилителями вкуса, жирами, заменителями жиров, консервантами, подсластителями, красящими добавками, питательными веществами, эмульгаторами, стабилизаторами, загустителями, агентами контроля pH, подкислителями, разрыхлителями, агентами, препятствующими слеживанию, увлажнителями, питательными веществами для дрожжей, улучшителями теста, улучшителями теста, укрепляющими агентами, ферментными препаратами, газами и их комбинациями. Обычно, связующие вещества, ароматизаторы, специи и т. д. выбирают в соответствии с потребностями конкретного населения. Например, молоко и/или сухое молоко не используют для снабжения индивидуумов с

аллергией/чувствительностью к молочным продуктам, пшеничную муку не используют для снабжения индивидуумов с аллергией/чувствительностью к глютену и т. д.

В некоторых областях применения может применяться по существу одномодальное распределение частиц по размеру, т.е. где все частицы имеют примерно одинаковый размер, в то время как в других областях применения может применяться широкое или мультимодальное распределение или комбинация распределений по размеру частиц. Точно так же, частицы уменьшенного размера могут быть получены из единственного источника биомата нитевидных грибов или из комбинации различных источников биоматов нитевидных грибов; например, только штамма МК7 или штамма МК7 и *Fusarium venenatum*, или штамма МК7 и *Fusarium venenatum* и биоматов головача гигантского и т.д.

Использование нитевидных грибов для промышленного производства в прошлом обычно требовало значительной инфраструктуры и/или оборудования, энергозатрат, дорогих реагентов и/или значительных человеческих ресурсов. Нитевидные грибы хорошо известны тем, что обладают самым большим метаболическим разнообразием среди всех микроорганизмов на Земле, включая способность производить широкий спектр органических кислот, антибиотиков, ферментов, гормонов, жиров, микотоксинов, витаминов, органических кислот, пигментов и рекомбинантных гетерологичных белков (Wiebi (2002) *Muco-protein from *Fusarium venenatum*: a well-established product for human consumption. Appl Microbiol Biotechnol 58, 421-427; El-Enshasy (2007) Chapter 9-- Filamentous Fungal Cultures - Process Characteristics, Products, and Applications. In. Bioprocessing for Value-Added Products from Renewable Resources. Editor: Shang-Tian Yang. Elsevier; Gibbs et al (2000) Growth of filamentous fungi in submerged culture: problems and possible solutions. Crit. Rev. Biotechnol. 20, 17-48*), а также способность разлагать в почвах многие виды трудноразлагаемых материалов, таких как лигноцеллюлоза и гуминовые вещества.

Несмотря на широкое распространение, существенные проблемы для производства при погруженной ферментации все еще существуют и включают важные факторы, такие как ограничение роста из-за ограниченного доступа кислорода и чрезмерные силы сдвига, создаваемые перемешиванием (Gibbs et al (2000) *Growth of filamentous fungi in submerged culture: problems and possible solutions. Crit. Rev. Biotechnol. 20, 17-48*). Поскольку растворимость кислорода в воде на поверхности Земли составляет примерно 8 мг/л, он легко истощается во время быстрого роста в погруженных культурах. Таким образом, для поддержания высоких темпов роста требуется непрерывная аэрация с использованием сложных, дорогих и энергоемких систем аэрации и перемешивания. Культивирование нитевидных грибов является еще более сложной задачей, поскольку нитевидная морфология придает не-Ньютоновское реологическое поведение, которое дополнительно препятствует переносу кислорода в раствор (Nørregaard et al. (2014) *Filamentous Fungi Fermentation. In Industrial Scale Suspension Culture of Living Cells, H.-P. Meyer, и D.R. Schmidhalter, eds. (Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. kGaA), pp. 130-162*). По мере

увеличения плотности культур, количество энергии, необходимое для аэрации и перемешивания культур, увеличивается нелинейно, а также очень высоки энергетические потребности для аэрации плотных культур. Для многих нитевидных видов, энергичное перемешивание и аэрация культур становится вредной для роста гифы, и в результате резко снижается скорость роста. Эти и другие проблемы глубокой ферментации нитевидных микроорганизмов требуют инновационных решений для эффективного использования этих организмов с ограниченными ресурсами, доступными на космических кораблях и на межпланетных станциях.

Описанная реакторная система (1) решает эти проблемы и имеет следующие преимущества:

- Нет необходимости в активной аэрации или перемешивании жидкой культуры;
- Агрегация биомассы *in situ* в единый когерентный слой со значительной прочностью на разрыв ($>0,1$ кг/см ширины биомата), что позволяет легкий сбор;
- Текстурированные биоматы могут использоваться для широкого спектра критически важных продуктов (т.е., продуктов питания, биопластиков, биотоплива, пищевых добавок, а также в качестве платформы экспрессии для множества фармацевтических препаратов;
- Минимальное потребление воды, а также минимальное и/или отсутствие остаточных сточных вод или питательных веществ в процессе при сохранении высокого производства биомассы (80-120 г/м²/день или 0,55 г/л/ч)
- Темпы роста могут привести к производству полностью сформированных биоматов всего за 2 дня или могут быть дополнительно увеличены на более чем 10 дней, в некоторых вариантах осуществления, по меньшей мере, примерно до 21 дня;
- Высокая плотность биомассы (биоматы обычно имеют 0,684 г/см³ сырого веса или 0,123 г/см³ сухого веса);
- Высокий выход (6,9 кг/м² сырого веса или 1,23 кг/м² сухого веса, а в некоторых вариантах осуществления до, по меньшей мере, примерно 206 г/м² сухого веса в день);
- Можно выращивать различные нитевидные грибы (включая экстремофилы, а также известные съедобные и коммерчески значимые грибы) с особыми преимуществами для различных процессов;
- Увеличение или уменьшение масштаба относительно несложно и не приводит к снижению производительности вплоть до площади роста, по меньшей мере, 150 см²;
- В процессе могут использоваться самые разнообразные отходы, богатые С и N, которые возникают в результате стихийных бедствий и/или космических полетов.

Описанная реакторная система обеспечивает автономный биоматный реактор, содержащий контейнер и помещенное внутри контейнера сырье, грибковый инокулят, и, по меньшей мере, полупроницаемую мембрану (например, газопроницаемую, проницаемую для жидкости, полупроницаемую для газа и/или полупроницаемую для жидкости) и, необязательно, жидкую питательную среду. В зависимости от обстоятельств, реактор может быть реактором одноразового использования или реактором многократного

использования.

Обычно контейнер может быть герметично закрыт и может включать крышку контейнера в дополнение к герметику. Некоторые примеры контейнеров включают закрытый лоток, закрытую чашку Петри, закрытый контейнер другого типа или пакет. Для некоторых применений или в некоторых средах контейнер имеет множество камер для выращивания, например, в соответствии с конструкцией коллектора и/или дроссельной системой.

Сырье инокулируют штаммом нитевидных грибов, как описано выше. Примеры штаммов Ascomycetes являются штамм МК7 (ATCC РТА-10698, депонирована в American Type Culture Collection, 1081 University Boulevard, Manassas, Virginia, USA), *Fusarium venenatum*, *Fusarium avenaceum* и/или их комбинации. Инокуляция сырья может происходить во время помещения сырья в контейнер или может происходить через некоторое время после того, как сырье было помещено. То есть реактор (1) может быть заполнен лиофилизированным инокулятом нитевидных грибов, который оживает при контакте с сырьем, или сырье может быть непосредственно инокулировано после помещения в канал(ы) реактора (4), или сырье может быть инокулировано, а затем помещено в канал(ы) реактора.

Что касается сырья, используемого в реакторе, сырье может быть таким, как описано выше. Например, это могут быть отходы, такие как естественная моча и/или фекалии, пищевые отходы, растительный материал, промышленные отходы, такие как глицерин, и побочные продукты, крахмал и/или побочные продукты гидролиза крахмала, кислая сыворотка, сахарный спирт и/или их комбинации. Также могут применяться синтезированные или произведенные суррогаты отходов, такие как суррогат мочи человека. Сырье для растительного материала обычно является лигноцеллюлозным. Некоторыми примерами лигноцеллюлозного сырья являются остатки сельскохозяйственных культур (например, пшеничная солома, ячменная солома, рисовая солома, мелкозерновая солома, кукурузная солома, кукурузные волокна (например, кукурузная смола (CFG), сушеная барда (DDG), кукурузная глютенная мука (CGM), просо, свекловичная пульпа, отходы производства пальмового масла, сено-люцерна, жмых сахарного тростника, не сельскохозяйственная биомасса (например, биомасса водорослей, биомасса цианобактерий, остатки городских деревьев), лесные продукты и отходы промышленности (например, первичные/вторичные измельченные отходы хвойной древесины, первичные/вторичные измельченные отходы твердой древесины, шлам вторичной бумажной массы), отходы, содержащие лигноцеллюлозу (например, газетная бумага, макулатура, пивоваренное зерно, использованные резиновые шины (URT), городские органические отходы и побочные продукты, отходы дворовых площадок и побочные продукты, клинические органические отходы и побочные продукты, а также отходы и побочные продукты, образующиеся при производстве биотоплива (например, переработанная биомасса водорослей, глицерин) и их комбинации.

В вариантах осуществления, проницаемая мембрана может содержать полимерный

материал, такой как, в качестве неограничивающего примера, полипропилен, полиэтилен, политетрафторэтилен, поликарбонат, полиамид (например, нейлон), полипирролон, поли(амидоамин) дендримерный композит, поливинилиден фторид, полиэфирсульфон, ацетат целлюлозы, смесь сложных эфиров целлюлозы и/или бутадиен-акрилонитрил. Проницаемая мембрана может содержать, дополнительно и/или альтернативно, стекловолоконный материал, пористый керамический материал и/или полотно, такую как, в качестве неограничивающего примера, полипропиленовое полотно, политетрафторэтиленовое полотно и/или нейлоновый сетчатый фильтр. Хотя размер пор проницаемой мембраны (2) обычно может быть любым значением с шагом 0,01 мкм или диапазоном значений от примерно 0,2 мкм до примерно 25 мкм, включая, в качестве неограничивающего примера, 0,2 мкм, 0,22 мкм, 0,45 мкм, 1,0 мкм, 5 мкм, 10 мкм и 11 мкм, мембрана (2) может быть в форме стерильного материала, подобного ткани, или в форме материала, подобного бумаге.

Проницаемая мембрана(ы) (2) позволяет оптимизировать систему несколькими различными способами, которые показаны на фигурах 15-18. Хотя реакторная система, показанная на фигурах, имеет в общей сложности девять каналов (4), специалист в данной области техники понимает, что может присутствовать любое количество каналов (4), от одного канала (4) до множества каналов (4), в зависимости от пространства, доступного для размещения реактора (1). Аналогично, форма каналов (4) не ограничивается прямоугольными призмами или цилиндрами и может принимать любую форму, соответствующую пространству, доступному для реактора (1).

В некоторых случаях, мембрана (2) расположена в прямом контакте с поверхностью сырья, необязательной жидкой средой и инокулятом, присутствующим в контейнере, как показано на фигуре 12. Мембрана также может быть герметизирована в контакте с поверхностью исходного материала, например, прикрепив ее к пластиковому каркасу с интегрированной резиновой прокладкой.

В других случаях, мембрана подвешивается над исходным сырьем, так что по мере роста грибов и потребления кислорода мембрана опускается вниз к слою или на перегородку, расположенную между мембраной и исходным сырьем, что обеспечивает рост воздушных гиф. Такая система показана на фигуре 15. Здесь реактор (1) состоит из нескольких каналов (4), которые начинаются у входного клапана (6) в передней части (7) реактора, заканчиваются выходным клапаном (8) в задней части (5) реактора и разделены перегородками/стенками (9). Газопроницаемая мембрана (2) образует верх реактора. Дно (3) реактора может быть выполнено из любого подходящего вещества, включая, но не ограничиваясь ими, твердые и мягкие пластмассы, такие как полиэтилентерефталат, полиэтилен высокой плотности, поливинилхлорид, полимолочная кислота, поликарбонат, акрил, ацеталь, нейлон, акрилонитрил бутадиен-стирол, стекло, металлы, такие как алюминий, титан, нержавеющая сталь и т.д. и/или их комбинации. Перегородки/стенки (9) могут быть изготовлены из аналогичных материалов. Подходящие передний (6) и задний (8) клапаны включают, помимо прочего, одноходовые клапаны, двухходовые клапаны,

шаровые клапаны, дроссельные клапаны, задвижки, пробковые краны, запорные клапаны, пережимные клапаны, дисковые стопорные клапаны, присоединенные клапаны, отдельные клапаны и/или их комбинации. Впускной клапан (6) служит для обеспечения доступа к камере (4) для доставки сырья/среды в камеру, в то время как выпускной клапан (8) позволяет удалять истощенное сырье и/или биомат нитевидных грибов. Проницаемая мембрана (2) может содержать полимерный материал, такой как, в качестве не ограничивающего примера, полипропилен, полиэтилен, политетрафторэтилен, поликарбонат, полиамид (например, нейлон), полипирролон, поли(амидоамин) дендримерный композит, поливинилиденфторид, полиэфирсульфон, ацетат целлюлозы, смесь сложных эфиров целлюлозы и/или бутадиев-акрилонитрил. Проницаемая мембрана может содержать, дополнительно и/или альтернативно, материал из стекловолокна, пористый керамический материал и/или полотно, такое как, в качестве неограничивающего примера, полипропиленовое полотно, политетрафторэтиленовое полотно и/или нейлоновый сетчатый фильтр. Хотя размер пор проницаемой мембраны (2) обычно может быть любым значением с шагом 0,01 мкм или диапазоном значений от примерно 0,2 мкм до примерно 25 мкм, включая, в качестве неограничивающего примера, 0,2 мкм, 0,22 мкм, 0,45 мкм, 1,0 мкм, 5 мкм, 10 мкм и 11 мкм, мембрана (2) может быть в форме стерильного материала, подобного ткани, или в форме материала, подобного бумаге. Для некоторых применений, поверхность мембраны имеет гладкую текстуру, для других, шероховатую. Кроме того, путь диффузии газа может варьироваться от по существу прямого до последующего более извилистого.

В других ситуациях, мембрана способствует проникновению кислорода и выходу других газов, образующихся во время роста грибов (фигура 14). В этой ситуации, герметичный реактор (1) имеет камеру для сбора газа (14), которая находится непосредственно над газопроницаемой мембраной (2) (см. фигуру 16). Камера для сбора газа (14) может быть изготовлена из материалов, аналогичных материалам, используемым для изготовления стенок/перегородок (9) или дна (3) реактора; т.е. и твердых и мягких пластмасс, таких как полиэтилентерефталат, полиэтилен высокой плотности, поливинилхлорид, полимолочная кислота, поликарбонат, акрил, ацеталь, нейлон, акрилонитрил бутадиев стирол, стекло, металлы, такие как алюминий, титан, нержавеющая сталь и т.д. и/или их комбинации. Альтернативно, камера для сбора газов состоит из каналов (15), которые могут зеркально отражать каналы (4) герметичного реактора (1) или которые охватывают более одного из каналов герметичного реактора (20) (см. фигуру 17).

В других системах, отдельные газопроницаемые мембраны используют для входа и выхода газов. Фигура 18 иллюстрирует такую систему. В этом случае, две разные газопроницаемые мембраны (2, 50) подают в отдельные каналы для сбора газа (30, 40) и они присутствуют над одним каналом реактора (4). Этот тип системы позволяет вводить, выводить и/или собирать и/или разделять отдельные полезные газы. Например, одна мембрана может быть откалибрована для прохождения кислорода, а вторая мембрана для

прохождения диоксида углерода или водорода или других соответствующих газовых систем.

Нитевидный гриб может быть инокулирован, и биомат может быть выращен на каждой или любой стороне мембраны, включая, в качестве неограничивающего примера, верхнюю сторону, нижнюю сторону, сторону, обращенную к атмосфере и/или обращенную к свободному пространству для газов, или сторону, обращенную к сырью. Характеристики роста биомата, включая, но не ограничиваясь ими, плотность и сторону мембраны, на которой растет биомат, можно контролировать, контролируя различные параметры биореактора, например, сторону мембраны, на которую инокулируется гриб, материал мембраны, размер мембраны и толщину пор, температуру, влажность, давление, длину волны или количество света и так далее. Как правило, было обнаружено, что наилучшее качество биомата достигается, когда сырье постоянно взаимодействует (т.е. физически контактирует) с проницаемой мембраной, а биомат растет на противоположной стороне (т.е. обращенной к атмосфере или газу) стороне мембраны. В частности, в некоторых вариантах осуществления, может быть предпочтительно выращивать биомат в свободном пространстве для газа, которое герметично или иным образом изолировано от окружающей атмосферы и которому позволяют стать влажным, когда биомат растет и производит воду. Также предпочтительно, чтобы биореактор был сконфигурирован так, чтобы позволить биомату, и в частности гифам биомата нитевидных грибов, оставаться по существу сухими (т.е. не контактировать с жидкой средой для выращивания или другой свободной жидкой влагой) во время роста биомата.

По мере роста биомата, в процессе дыхания растущего гриба образуется вода, которая накапливается внутри биореактора (обычно на газофазной стороне мембраны). В дополнение к обеспечению влажной среды, подходящей для дальнейшего роста биомата, эта накопленная вода может быть собрана как ценный продукт и использована для любых подходящих целей. Таким образом, одно из преимуществ настоящего изобретения состоит в том, что часть исходного сырья, которое может содержать продукты жизнедеятельности, такие как фекалии или моча животного, может быть преобразована в чистую воду. Другое сырье, из которого может быть получена чистая вода, может включать, без ограничения, любое одно или несколько из сахара (например, сахарозы, мальтозы, глюкозы, фруктозы, редких сахаров и т. д.), сахарного спирта (например, глицерина, полиола и т. д.), крахмала (например, кукурузного крахмала и т. д.), производного крахмала, гидролизата крахмала, гидролизата гидрогенизированного крахмала, лигноцеллюлозной пульпы или сырья (например, свекловичной пульпы, сельскохозяйственной пульпы, древесной пульпы, сушеной барды, отходов пивоварения и т. д.), кукурузного экстракта, кислой сыворотки, сладкой сыворотки, молочной сыворотки, пшеничного экстракта, промышленного экстракта, продуктов/потоков отходов пищевой промышленности, остатков сельскохозяйственных культур (например, пшеничной соломы, ячменной соломы, рисовой соломы, гороха, овса, мелкозерновой соломы, кукурузной соломы, кукурузных волокон (например, смолы кукурузных волокон (CFG),

сушеной барды (DDG), кукурузной глютенной муки (CGM), проса, сена-люцерны, жмыха сахарного тростника, несельскохозяйственной биомассы (например, биомассы водорослей), цианобактериальной биомассы, остатков городских деревьев), овощей (например, моркови, брокколи, чеснока, картофеля, свеклы, цветной капусты), лесных продуктов и промышленных отходов (например, отходы первичного/вторичного измельчения хвойных пород, отходы первичного/вторичного измельчения твердых пород древесины, шлама вторичной бумажной массы, анаэробного клея), отходов, содержащих лигноцеллюлозу (например, газетной бумаги, макулатуры, пивоваренного зерна, использованных резиновых шин (URT), городских органических отходов, дворовых отходов, клинических органических отходов, сахара, крахмала, отработанных масел, оливкового масла, отходов переработки оливкового масла, экскрементов сверчков и отходов, образующихся при производстве биотоплива (например, переработанной биомассы водорослей, глицерина).

По мере роста биомата, в процессе дыхания растущего гриба также может выделяться один или несколько газов, например аммиак, газообразный водород и/или летучие сложные эфиры. В вариантах осуществления, мембрана может быть селективной газопроницаемой мембраной, которая позволяет разделить и/или сегрегацию, по меньшей мере, одного газа, образующегося при дыхании грибов.

Различия в давлении между одной стороной мембраны и другой стороной мембраны могут быть использованы для воздействия на различные свойства нитевидных грибов биомата. Например, изобретение рассматривает не атмосферное давление с одной или обеих сторон мембраны, такое как сверх- или субатмосферное давление с одной стороны и атмосферное с другой, или сверхатмосферное или субатмосферное с обеих сторон или сверхатмосферное с одной стороны и субатмосферное с другой. В качестве неограничивающего примера, на скорость роста биомата может быть влиять, например, положительное давление на сырьевой стороне мембраны, что может быть аналогично «принудительной подаче» биомассы и ускорению производства биомата и/или увеличению выхода, в то время как положительное давление на «сухой» стороне мембраны может привести к более медленному производству биомассы, что приведет к изменению состава или физических свойств биомассы грибов. И наоборот, в некоторых вариантах осуществления, для скорости роста может быть предпочтительно, чтобы биомат оставался сухим во время роста, и, таким образом, может наблюдаться противоположный эффект, то есть положительное давление приводит к «более влажному» и медленнее растущему слою, в то время как отрицательное давление приводит к «более сухому», быстрорастущему слою. Селективное применение давления также может быть подходящим для определения типа мембраны, которая является наиболее предпочтительной для данного применения биореактора, например, изменения давления могут быть более или менее предпочтительными для мембран с заданным размером пор). Изменения атмосферного давления в газовом свободном пространстве и/или окружающей среде также могут влиять на характеристики роста биомата, например образование гиф

воздушного мицелия, образование гиф, мицелия и/или нитей, а также плотность биомассы, и могут даже использоваться для стимулирования инокуляции нитевидного гриба на мембрану.

В вариантах осуществления, цианобактерии могут быть предпочтительно предоставлены с любой стороны мембраны внутри биореактора, либо естественным путем, либо инокуляцией. Цианобактерии, живые или мертвые, могут благоприятно влиять на питательные свойства исходного сырья в качестве источника углерода и азота. Кроме того, живые цианобактерии в качестве продукта дыхания могут служить источником кислорода, способствующего росту биомассы. Любое из этих преимуществ или оба этих преимущества могут сделать биореакторы по настоящему изобретению особенно подходящими для различных областей применения, где другие решения неприемлемы, например, для длительных космических полетов с экипажем. Типовая схема варианта осуществления биореактора, включающего дышащие цианобактерии, проиллюстрирована на фигуре 29.

В то время как в большинстве вариантов осуществления мягкая сила должна быть применена к сбору (т.е. удалению с поверхности мембраны) биоматов, в некоторых вариантах осуществления биоматы могут быть «самособирающимися», то есть, они могут отделяться от мембраны спонтанно. Авторы настоящего изобретения в частности наблюдали это явление, например, когда биомат имеет высокое содержание воды, когда в сырье присутствует олеиновая кислота и/или когда мембрана относительно тонкая (например, менее 0,2 мм толщиной), гладкая и характеризуется невысокой извилистостью. В некоторых вариантах осуществления, самосбор может быть достигнут применением давления. Сила адгезии биомата к мембране может зависеть и, таким образом, выбираться через контроль любого одного или нескольких параметров биореактора, например, видов нитевидных грибов, состава сырья, характеристик мембраны (таких как материал, размер пор, геометрия/шероховатость и т. д.), давления с обеих сторон мембраны и/или перепада давления на мембране и т. д. Таким образом, одним из аспектов изобретения является предоставление слоев, которые собираются сами, спонтанно отделяясь от поверхности мембраны.

Реактор (1) производит биомат, который служит источником пищи, например источником белка и/или источником масла. Однако биомат может также служить аналогом кожи, биопластиком, источником предшественников биотоплива, биотопливом и/или их комбинациями. В других вариантах осуществления, биомат служит для производства органических продуктов, таких как органические кислоты, антибиотики, ферменты, гормоны, жиры, микотоксины, витамины, пигменты и рекомбинантные гетерологичные белки.

Описанная технология ферментации биомата в реакторе позволяет выращивать на стандартном, а также экстремальном сырье и в среде, таких как отходы жизнедеятельности человека (моча/кал), и производить высоко консолидированный и текстурированный продукт без необходимости стадии разделения или концентрирования.

Относительно высокие скорости производства биомассы - т.е., по меньшей мере, примерно 0,05 г/л/ч сухой биомассы (т. е. граммы сухой биомассы, произведенной на литр сырья в час), или, по меньшей мере, примерно 0,10 г/л/ч сухой биомассы, или, по меньшей мере, примерно 0,15 г/л/ч сухой биомассы, или, по меньшей мере, примерно 0,20 г/л/ч сухой биомассы, или, по меньшей мере, примерно 0,25 г/л/ч сухой биомассы, или, по меньшей мере, примерно 0,30 г/л/ч сухой биомассы, или, по меньшей мере, примерно 0,35 г/л/ч сухой биомассы, или, по меньшей мере, примерно 0,40 г/л/ч сухой биомассы, или, по меньшей мере, примерно 0,45 г/л/ч сухой биомассы, или, по меньшей мере, примерно 0,50 г/л/ч сухой биомассы, или, по меньшей мере, примерно 0,55 г/л/ч сухой биомассы, или, по меньшей мере, примерно 0,60 г/л/ч сухой биомассы, или, по меньшей мере, примерно 0,65 г/л/ч сухой биомассы, или, по меньшей мере, примерно 0,70 г/л/ч сухой биомассы, или, по меньшей мере, примерно 0,75 г/л/ч сухой биомассы, или, по меньшей мере, примерно 0,80 г/л/ч сухой биомассы, или, по меньшей мере, примерно 0,85 г/л/ч сухой биомассы, или, по меньшей мере, примерно 0,90 г/л/ч сухой биомассы, или, по меньшей мере, примерно 0,95 г/л/ч сухой биомассы, или, по меньшей мере, примерно 1,00 г/л/ч сухой биомассы - и/или, например, в середине периодических процессов, высокое производство (т.е. граммы биомата на литр сырья), по меньшей мере, примерно 10 г/л, или, по меньшей мере, примерно 20 г/л, или, по меньшей мере, примерно 30 г/л, или, по меньшей мере, примерно 40 г/л или, по меньшей мере, примерно 50 г/л, или, по меньшей мере, примерно 60 г/л, или, по меньшей мере, примерно 70 г/л, или, по меньшей мере, примерно 80 г/л, или, по меньшей мере, примерно 90 г/л или, по меньшей мере, примерно 100 г/л, или, по меньшей мере, примерно 110 г/л, или, по меньшей мере, примерно 120 г/л, или, по меньшей мере, примерно 130 г/л, или, по меньшей мере, примерно 140 г/л, или, по меньшей мере, примерно 150 г/л, или, по меньшей мере, примерно 160 г/л, или, по меньшей мере, примерно 170 г/л, или, по меньшей мере, примерно 180 г/л, или, по меньшей мере, примерно 190 г/л или, по меньшей мере, примерно 200 г/л, достигается без необходимости активной аэрации или перемешивания. Масштабирование системы по вертикали, горизонтали и/или более чем в двух измерениях выполняется просто и не приводит к снижению производительности. Производимые биоматы обычно имеют толщину от 0,2 до 2,5 см с содержанием сухого вещества от 10 до 30% и могут быть легко использованы для критически важных нужд, таких как заменители мяса, множество других аппетитных продуктов и строительные материалы.

Биоматы грибов, выращенные в описанной реакторной системе, могут быть описаны как толстые пелликулы, которые во многом похожи на микробные биопленки, которые растут на поверхности, но которые согласуются с толщиной биоматов, описанных в настоящем описании, и которые присутствуют на поверхности раздела газ-жидкость. Например, было показано, что бактериальные клетки в биопленках выдерживают экстремальную дезинфекцию гипохлоритом натрия (отбеливателем) и гидроксидом натрия (Cocoran, 2013). Описанная реакторная система использует преимущество структуры биопленки, позволяющей расти на жестких человеческих и

промышленных отходах и побочных продуктах, которые могут образовываться в экстремальных условиях, например, в космических полетах или в других тяжелых условиях, вызванных стихийными бедствиями.

Описанная конструкция реактора включает проницаемую мембрану, которая расположена непосредственно на жидкой поверхности сырья или подвешена над ней. В одном варианте осуществления, инкапсулированная конструкция реактора позволяет газообмен с внешней атмосферой, но герметично закрывает, чтобы избежать попадания загрязнений или вытекания газов/жидкости. Инкапсулированная конструкция реактора также может обеспечить отделение расходных газов от выделяющихся газов с помощью газопроницаемой мембраны. Для достижения этого, в некоторых случаях используют клапаны и/или дополнительные пористые мембраны, имеющие одинаковые или разные свойства, для образования отдельных слоев между различными аспектами одного или нескольких исходных материалов и необязательной жидкой культуральной средой.

Быстрый рост биомата с использованием описанной конструкции реактора был продемонстрирован с использованием различных проницаемых мембранных материалов. На фигуре 13 показан биомат толщиной примерно 7 мм, выращенный в реакторе, где контейнером является чашка Петри, покрытая полипропиленовой мембраной, которая уложена непосредственно на поверхность сырья/жидкой среды. Первоначальный биомат образовался путем непосредственного прикрепления к мембране и со временем рос вниз в жидкую среду (см. фигуру 12). К концу пятидневного периода роста практически все сырье/жидкая среда было израсходовано, и плотная биомасса полностью заполнила объем под мембраной.

Полученный биомат лишь слегка прилипает к мембране и легко собирается простым отслаиванием биомата от мембраны (смотри фигуры 13A-13D). Дополнительные эксперименты с поликарбонатными мембранами дали аналогичные результаты (данные не показаны). Таким образом, общий объем реактора можно эффективно использовать для производства плотной, легко собираемой биомассы. В качестве неограничивающего примера, биореакторы по настоящему изобретению могут принимать форму герметичной «оболочки», содержащей четыре мембраны: внешнюю верхнюю мембрану, внутреннюю верхнюю мембрану, внутреннюю нижнюю мембрану и внешнюю нижнюю мембрану. В таких вариантах осуществления, сырье может подаваться между внутренней верхней мембраной и внутренней нижней мембраной, в результате чего сырье «зажато» между газовыми пустотами на любой вертикальной стороне (то есть между внешней и внутренней верхней мембранами и между внешней и внутренней нижними мембранами). Таким образом, биомат может расти на внешних поверхностях внутренних мембран, в свободное пространство для газа по обе стороны от исходного материала, при этом будучи, по меньшей мере, частично изолированным от окружающей атмосферы за счет внешних мембран (которые в вариантах осуществления могут быть газопроницаемыми или полупроницаемыми для газа мембранами). «Оболочка» биореактора может быть биореактором с высокой эффективностью по объему, который можно использовать, когда

пространство ограничено, например, на борту космического корабля или в аварийно-спасательных ситуациях.

Биоматы, обычно производимые в описанных реакторах имеют высокую плотность, как описано в настоящем документе, и, в зависимости от гриба и условий выращивания, имеют волокнистую текстуру. Производство волокнистой биомассы может иметь решающее значение для некоторых критически важных продуктов, таких как пищевые продукты, для которых требуется текстура, имитирующая мясо, а также волокнистые материалы, имитирующие кожу и дерево. Плотная природа биомассы также обеспечивает легкий сбор без необходимости стадии концентрирования (например, центрифугирования, фильтрации). Плотность биомата может варьироваться от примерно 0,01 г веса сухого биомата/см³ до примерно 1 г/см³, и любой поддиапазон в этом диапазоне. В некоторых вариантах осуществления плотность может быть более примерно 0,01, более примерно 0,02, более примерно 0,03, более примерно 0,04, более примерно 0,05, более примерно 0,06, более примерно 0,07, более примерно 0,08, более примерно 0,09, более примерно 0,1, более примерно 0,2, более примерно 0,3, более примерно 0,4, более примерно 0,5, более примерно 0,6, более примерно 0,7, более примерно 0,8, более примерно 0,9 или более чем примерно 1 г/см³.

Обращаясь теперь к фигуре 23, проиллюстрировано несколько различных конфигураций биореактора, каждая из которых находится в пределах объема настоящего описания. В конфигурации, обозначенной цифрой 1, сырье расположено ниже и находится в физическом контакте с мембраной, и биомат растет вверх от верхней поверхности мембраны (хотя в некоторых вариантах осуществления грибное продукт может также расти вниз от нижней, т.е. обращенной к сырью, поверхности мембраны). В конфигурации, обозначенной цифрой 2, биомат растет непосредственно на поверхности сырья (то есть без мембраны, присутствующей между биоматом и сырьем) в свободное пространство для газа, и сырье, биомат и пространство над продуктом отделены от окружающей среды мембраной; мембраны этого варианта осуществления могут быть одинаковыми или отличаться от мембраны, расположенной между исходным сырьем и биоматом в других вариантах осуществления. В конфигурации, обозначенной цифрой 3, предусмотрены две мембраны: нижняя мембрана, отделяющая сырье от биомата (как в конфигурации, обозначенной цифрой 1), и верхняя мембрана, отделяющая биомат и газовое пространство над биоматом от окружающей среды (как в конфигурации, обозначенной цифрой 2). В конфигурации, обозначенной цифрой 4, предусмотрена «перевернутая» схема биореактора, в которой сырье подается на верхней поверхности мембраны, а биомат растет вниз от нижней поверхности мембраны в свободное пространство для газа и/или окружающую среду (хотя в некоторых вариантах осуществления грибной продукт может также расти вверх от верхней, то есть обращенной к исходному сырью, поверхности мембраны).

Обращаясь теперь к фигурам 24А и 24В, проиллюстрирован «герметичный» (плотно закрытый от окружающей среды) вариант биореактора в соответствии с

конфигурацией, обозначенной «1» на фигуре 23, до (фигура 24А) и после (фигура 24В) производства биомата. Как показано на фигуре 24В, свежая вода, образующаяся при дыхании нитевидных грибов, конденсируется и накапливается на газофазной стороне мембраны.

Обращаясь теперь к фигуре 33, проиллюстрирована нейлоновая сетчатая фильтрующая мембрана. В этом варианте осуществления, нейлоновый сетчатый фильтр состоит из двух нейлоновых мембран (размер пор 11 мкм), которые «уложены друг на друга» (т.е. помещены в физический контакт, так что вторая поверхность первой мембраны примыкает к первой поверхности второй мембраны) для уменьшения эффективной пористости мембраны и позволяет мембране оставаться над поверхностью исходного материала. Согласно настоящему описанию, мембраны этого типа подходят для выращивания грибных биоматов.

Обращаясь теперь к фигурам 35А и 35В, показан биореактор с мембранной оболочкой (МЕМВ). В этом варианте осуществления, МЕМВ включает закрытую камеру или контейнер в жидкостной связи с резервуаром для среды, и включает множество мембранных оболочек. Как показано на фигуре 35А, когда среда для выращивания поступает в МЕМВ из резервуара для среды, она течет в каждую из множества мембранных оболочек. Как показано на фигуре 35В, каждая оболочка мембраны содержит пористый внутренний материал ядра, окруженный с каждой стороны полупроницаемой мембраной. Когда среда для выращивания протекает через мембранную оболочку, она вступает в контакт с пористым внутренним материалом ядра и протекает через него, позволяя биомату нитевидных грибов получить доступ к среде для выращивания через полупроницаемую мембрану и, таким образом, расти на внешней поверхности полупроницаемой мембраны.

Следует четко понимать, что возможны различные другие конфигурации биореакторов, которые входят в объем настоящего изобретения. В качестве неограничивающего примера, одна такая конфигурация представляет собой «желобчатый» биореактор, в котором открывающаяся вверх дугообразная гидрофильная мембрана, имеющая относительно небольшой размер пор (например, 0,2 мкм), представлена в виде желоба, и шланг со сквозными отверстиями расположен продольно параллельно мембране. Сырье можно подавать, например, распылением через отверстия в шланге, чтобы гарантировать, что внутренняя/верхняя дугообразная поверхность желоба всегда равномерно насыщена питательной средой. Затем биомасса может расти на противоположной стороне желобной мембраны, то есть на внешней/нижней поверхности, и в некоторых вариантах осуществления, может, таким образом, иметь возможность отпадать от мембраны под тяжестью собственного веса при достижении определенной массы.

Использование биоматных реакторов в невесомости

Основной физической силой, контролирующей образование и рост биомата в описанном реакторе, является прикрепление к мембране. Не будучи связанными теорией,

полагают, что биоматы, выращенные в описанном реакторе, не будут подвергаться воздействию условий невесомости, возникающих во время космического полета. Направленный рост под действием силы тяжести или рост, контролируемый физическим перемешиванием или потоком, не является определяющим фактором в системе, как это обычно бывает в условиях силы тяжести. Предыдущие эксперименты в космосе успешно продемонстрировали рост грибов (European Space Agency, Expeditions 25-28, Growth and Survival of Colored Fungi in Space (CFS-A)), что дает дополнительную меру уверенности в том, что описанная реакторная система будет работать в космической среде.

Для космических полетов и простоты развертывания, в реактор можно предварительно загрузить лиофилизированный инокулят и основные ингредиенты для поддержки роста на определенном сырье (при необходимости). Затем космонавты и космические путешественники могут подготовить сырье, инокулят и любые компоненты среды. Время инкубации зависит от исходного сырья, штамма микроорганизма и других параметров роста, таких как pH, температура и содержание воды. Условия инкубации просты в том, что ферментация проводится в статических условиях, когда реактору просто дают возможность инкубировать на месте. Плотные консолидированные биоматы собирают, просто открывая крышку реактора (например, типа ziplock®) и удаляя слои.

Хотя различные варианты осуществления настоящего изобретения были подробно описаны, очевидно, что специалистам в данной области техники будут очевидны модификации и адаптации этих вариантов осуществления. Однако следует четко понимать, что такие модификации и адаптации находятся в пределах объема настоящего изобретения, как изложено в следующей формуле изобретения. Приведенные примеры и цифры представлены только для целей иллюстрации и не предназначены для ограничения объема настоящего изобретения. Каждая публикация или другая ссылка, описанная в настоящем документе, полностью включена в настоящий документ посредством ссылки в той степени, в которой нет противоречия с настоящим описанием.

ПРИМЕРЫ

Пример 1: Рост штамма *Fusarium* штамма МК7 и других грибов в статических лоточных реакторах.

Биоматы нитевидного ацидофильного штамма *Fusarium* МК 7, *Ganoderma lucidum* (Рейши; фигура 1А), *Pleurotus ostreatus* (устричная вешенка, фигура 1В: и устричный гриб, фигура 1С), *Sparassis crispa* (спарассис кудрявый; фигура 1D), *Hypsizygus ulmarius* (гипсизигус ильмовый; фигура 1Е), *Calvatia gigantea* (головач гигантский; фигура 1F) и *Fusarium venenatum* выращивают в неглубоких статических лоточных реакторах, как описано в РСТ/US2017/020050.

Пример 2. Рост биомата *Fusarium* штамма МК7 на питательной среде, обновляемой ежедневно (полу-статические условия).

Плотные биоматы *Fusarium* штамма МК7 примерно 3 см толщины выращивают в течение 21 дней на питательной среде, которую обновляют ежедневно. Биоматы получают с использованием стерильной МК7-1 жидкой среды (как описано в РСТ/US2017/020050),

содержащей 7,5% глицерина при pH 3,0 в 12,7 x 17,8 см стеклянных лотках Pyrex®. Для начала эксперимента 200 мл среды для выращивания инокулируют 5% (объем/объем) культурой штамма *Fusarium* МК7 в фазе позднего экспоненциального роста, как описано ранее в PCT/US2017/020050. 200 мл инокулированной среды добавляют в каждый из трех стерильных лотков, которые были высланы стерильными ситами из крупнозернистого нейлона. Культуры инкубируют в покое в течение 4 дней при комнатной температуре (~22°C), чтобы позволить развитие начального слоя биомата, который образуется на поверхности жидкости. Через 4 дней роста биоматы осторожно вынимают из лотка с помощью нейлоновых сеток и наклоняют под углом 45 градусов, чтобы жидкость могла стекать со слоев. Биоматы оставляют стекать в этом положении до тех пор, пока каждые пять секунд не будет капать менее одной капли жидкости. Достаточное осушение происходит, в среднем, примерно через 3 минуты. Капельно высушенные биоматы на ситах помещают в свежие предварительно взвешенные лотки Pyrex® 12,7×17,8 см, содержащие 200 мл свежей среды МК7-глицерин (описано в PCT/US2017/020050). Лотки с биоматами повторно взвешивают. Процесс перемещения биоматов на другой лоток, содержащий свежую среду, повторяют приблизительно ежедневно в течение еще 17 дней. Отбор образцов одного из биоматов происходит на 12, 15 и 21 день, и определяют содержание влаги в этих биоматах. Среднее содержание влаги в биоматах составляет 17,3% (стандартное отклонение=0,7), и это значение используют для расчета производства сухой биомассы на протяжении эксперимента. Производство сухой биомассы было линейным с 4 дня до 18 дня ($r^2=0,995$), после чего вес биомассы стабилизировался на уровне примерно 2,5 Кг сухой/м² (фигура 1, по оси Y, нормализованные на основе a на м², рост обычно является экспоненциальным между днем 0 и днем 4). Средняя скорость роста за этот временной период линейного роста составила 6,04 г/м²/час. На фигуре 2 показан биомат толщиной ~3 см, который развился через 21 день роста с использованием этого способа.

Чтобы подтвердить эти результаты, повторяют тот же экспериментальный протокол, на этот раз вместе с контрольными лотками, в которых среду не обновляют во время роста биомата. Результаты этого сравнительного эксперимента иллюстрированы на фигуре 36. Как показано на фигуре 36, лотки, в которых была обновлена среда, показали рост биомата, который был примерно в три раза быстрее (109 против 34 граммов сухой биомассы на квадратный метр в день), в течение периода вдвое большего (21 против 10 дней). Неожиданно было обнаружено, что обновление среды для выращивания не просто сохраняет ту же скорость роста, что и контроль, но фактически ускоряет рост; где как на обновленных лотках, так и в контроле наблюдают одинаковое количество роста до дня 3 (до того, как среда была обновлена в первый раз), резкое увеличение скорости роста наблюдают в обновленных лотках, начиная между 3 и 4 днем, и это увеличение сохраняется почти на протяжении всего эксперимента.

Пример 3. Рост биоматов в условиях непрерывного потока.

Была изготовлена биореакторная система с непрерывным потоком, чтобы

продемонстрировать рост биоматов на поверхности проточной жидкой среды. Система изготовлена из прозрачной пластиковой кровельной панели длиной 2,44 м с рядом гофров, которые используют в качестве проточных каналов (фигура 3). Концы каждого из каналов покрыты силиконом (100% силикон, DAP Products Inc., Baltimore, MD), что позволяет удерживать жидкость внутри каналов. Течение через каналы облегчается за счет доставки жидкой среды к одному концу каналов через перистальтический насос, при этом жидкость выходит с другого конца каналов через отверстия в дне каналов. Вся система пластиковых кровельных панелей наклонена под углом 1 см на 1 м пробега, чтобы обеспечить удержание примерно 500 мл жидкости в каждом канале и постоянный поток, зависящий от количества жидкости и угла наклона.

Панельную систему дезинфицируют и заворачивают в пластиковую пленку типа Saran® для изоляции системы от окружающей среды помещения. Стерильный воздух закачивают под пластиковую пленку со скоростью 400 мл/мин, создавая в системе положительное давление. Чтобы инициировать развитие биомата до начала потока, 500 мл объема питательной среды, инокулированной желаемым нитевидным грибом, добавляют на канал и позволяют инкубироваться в неподвижных/статических условиях в течение 4 дней. Через 4 дня перистальтический насос подает непрерывный импульсный поток 400 мл/день для «подпитки» биоматов (включают при 2,016 мл/мин в течение 49 мин. 39 сек.; выключают в течение 5 часов 10 минут 21 секунд). Два независимых эксперимента проводят в каждом эксперименте с использованием двух отдельных проточных каналов в качестве репликатов (фигура 3).

Консолидированные биоматы собирают через 10 дней роста на питательной среде (4 дня в неподвижных/статических условиях, а затем 6 дней в непрерывном потоке; фигура 4). Средняя сухая масса полученной биомассы составляет в среднем 2,38 г для репликатов проточных каналов. Во время периодов непрерывного потока (с 4 по 10 день) средняя скорость удаления С и N из текущей жидкой среды растущими биоматами составляет 11,9 и 1,2 мг/л/ч, соответственно. Скорости удаления С и N из жидкой среды определяют измерением объема жидкости и общего количества С и N на входе и выходе из биореакторной системы с использованием анализатора общего С и N Costech (ECS 4010, Costech Analytical Technologies, Valencia, CA). Таким образом, система непрерывного потока поддерживает рост биоматов на поверхности. Эксперименты также служат в качестве лабораторной демонстрации непрерывной подпитки роста биомата *Fusarium* штамма МК7 и производства консолидированных биоматов. Следует отметить, что с помощью этого типа системы можно получить другое сырье, скорости потока и результирующую скорость роста. Например, с 10% глицерином в среде МК7-1 (описанной в PCT/US2017/020050) при рН 2,8 ожидаемый выход составляет более 40 граммов сухой биомассы в день на м².

Пример 4. Полунепрерывное и непрерывное производство биоматов *Fusarium* штамма МК7.

Плотные биоматы *Fusarium* штамма МК7 выращивают и собирают на

полунепрерывной основе в течение 19 дней. Биоматы получают с использованием кислой сыворотки в качестве сырья/источника углерода с добавлением МК7-1 среды с $\frac{1}{2}$ концентрации солей (описана в РСТ/US2017/020050), доведенной до pH 4,0. Чтобы начать эксперимент, 200 мл питательной среды, инокулированной штаммом *Fusarium* МК7 (5% объем/объем) в фазе позднего экспоненциального роста, добавляют в стерилизованные 12,7×17,8 см стеклянные лотки Ругех®, которые затем покрывают оберткой Sagan® и инкубируют при комнатной температуре. Через 5 дней роста, 1/3 биомата с одного конца лотка удаляют отрезанием и удалением среза биомата 5,9 x 12,7 см (фигура 5А). Оставшиеся 2/3 биомата затем физически перемещают на открытую область среды, которая образована при удалении 1/3 части биомата. Биомат сдвигают, физически захватывая его пальцами в стерильных перчатках и вытягивая биомат до тех пор, пока он не коснется конца лотка, открывая среду без образовавшегося биомата на другом конце лотка (фигура 5В). Процесс сбора 1/3 части наиболее зрелой части биомата с последующим перемещением оставшихся 2/3 биомата над открытой площадью повторяют периодически. 50 мл среды асептически удаляют из лотка каждые 4 дня и заменяют 50 мл свежей стерильной среды (кислая сыворотка с концентрацией $\frac{1}{2}$ МК7-1) для пополнения питательных веществ, удаленных из жидкой среды при удалении биомата. Производство сухой биомассы с использованием этого способа дает 0,57 г/день на лоток или 25,2 г/сут/м² с 5 по 19 дни (фигура 6). Таким образом, продемонстрирована полунепрерывная производственная система, в которой наиболее зрелый конец биомата собирают со средней скоростью 1,56 см/день, и рост свежего биомата инициируют на открытой площади среды на другом конце лотка.

Система также приспособлена к непрерывному сбору и выращиванию биомата, при этом непрерывное удаление облегчается роликовым колесом, которое прикреплено к зрелому концу биомата (фигура 7). Роликовое колесо медленно вращается и собирает зрелый биомат и в то же время создает открытую среду для роста нового биомата на другом конце лотка. Роликовое колесо вращается и собирает биомат со скоростью 1,56 см/день для воспроизведения полунепрерывной системы, описанной выше. Желательно, чтобы количество питательных веществ в жидкой среде пополнялось со скоростью удаления питательных веществ биоматом.

Пример 5. Инкапсулированные в мембрану биореакторы.

Плотные биоматы *Fusarium* штамма МК7 выращивают в жидкой питательной среде, которую инкапсулируют в биореакторную систему без свободного пространства для газа. Стерильные днища чашек Петри (диаметром 55 мм) до краев заполняют 57 мл инокулированной среды МК7-1 (описанной в РСТ/US2017/020050), содержащей 8% глицерина. Газопроницаемые/полупроницаемые мембраны из полипропилена и поликарбоната помещают непосредственно на поверхность жидкой среды и плотно закрывают резиновыми лентами. В начале периода роста свободное пространство для газов отсутствует.

После инокуляции среды и запечатывания мембран биореакторы оставляют в

покое до сбора. На фигуре 8 показаны биоматы толщиной ~5 мм и ~1 мм *Fusarium* штамма МК7, которые выросли непосредственно под полипропиленовой (фигуры 13А-13С) и поликарбонатной (фигура 13D) мембранами в течение пяти дней, соответственно. Биоматы слегка прилипают к мембранам и могут быть легко собраны простым отслаиванием биоматов от мембран (фигура 13).

Пример 6: Получение пигментов и витамина D2 при облучении биоматов *Fusarium* МК7 УФВ

УФВ свет (290-320 нм) применяют для запуска производства пигмента биоматами *Fusarium* штамма МК7. Биоматы *Fusarium* штамма МК7, полученные за 3 дня на МК7-1 среде с 7,5% глицерином (описана в PCT/US2017/020050), облучают УФВ светом в течение 4 часов. Свет UVB испускается лампой мощностью 50 Вт (люминесцентная лампа Slimline Desert 50 UVB T8, 46 см; Zilla, Franklin, WI), размещенной на 10 см выше биомата. Оранжевая пигментация визуально определяется через 0,5 часа облучения и становится выраженной через 4 часа облучения (фигура 9). Кроме того, биоматы, которые не подвергались воздействию УФВ, имеют содержание витамина D2 менее 50 МЕ/100 г биомата, тогда как после воздействия УФВ в течение примерно 12 часов содержание витамина D2 увеличивается примерно до 1,2 миллиона МЕ/100 г биомата.

Пример 7: Биоматы *Fusarium* штамма МК7, выращенные на смеси глицерина, крахмал и кукурузного экстракта

Биоматы *Fusarium* штамма МК7 получают из смеси глицерина, крахмала, кукурузного экстракта и МК7-1 солей (описано в PCT/US2017/020050) в течение не менее 4 дней. Глицерин покупают у Duda Energy LLC (Decatur, AL; чистота 99,7%; сорт USP; лот № 466135376340); 100% кукурузный крахмал Argo производства Argo Food Companies, Inc (Memphis, TN) покупают в супермаркете Albertson в Bozeman, MT, и кукурузный настой покупают в Santa Cruz Biotechnology, Inc. (Dallas, TX; лот № B0116). Средой для выращивания является смесь 7,5% глицерина (масс./масс.), 2,5% крахмала и 2,5% кукурузного экстракта солями МК7-1. Смесь доводят до pH 3,3 добавлением подходящего количества HCl и кипятят в течение 15 минут в подходящем контейнере. После охлаждения до комнатной температуры, pH смеси повторно доводят до 3,3 и затем инокулируют 5% инокулятом *Fusarium* штамма МК7 (об./об.), полученным по PCT/US2017/020050. Аликвоты 1,5 л инокулированных сред добавляют в три продезинфицированных 0,25 м² полипропиленовых лотка, помещенных в продезинфицированную этажерочную конструкцию с лотками, которая полностью покрыта алюминиевой фольгой, чтобы создать темные условия, и инкубируют при 23° ± 1°С. Биоматы нитевидных грибов, которые выросли на поверхности среды, собирают через 4 дня, просто поднимая биомат с лотков.

Средний конечный pH остаточной жидкости в трех лотках составляет 4,45 (стандартное отклонение=0,14). Три круглые части по 56,7 см² вырезают и удаляют из каждого биомата в произвольных местах, и эти части сушат при 50°С в течение 48 часов для получения сухой массы. Средняя сухая масса биомассы (стандартное отклонение)

составляет 124,6 г/0,25 м² (43,4) или 498,4 г/м² (173,6). Средняя толщина влажных биоматов составляет 7,5 мм, и средняя плотность в пересчете на сухой вес составляет 0,66 г/см³.

Чтобы обнажить нити биомата и сделать возможным исследование с помощью автоэлектронной сканирующей микроскопии (FE-SEM), внеклеточный матрикс (ECM) между нитями удаляют промыванием этанолом. Для проведения этого, части биоматов 1 см² (1 см x 1 см) вырезают лезвием бритвы непосредственно перед сбором, и вырезанные части подвергают серии этанольного промывания/дегидратации путем последовательного погружения образцов в указанное время в 40 мл смесь этанола следующим образом: 25% этанола, 75% деионизированной H₂O в течение 20 минут; 50% этанол, 50% деионизированной H₂O в течение 20 минут; 75% этанола, 25% деионизированной H₂O в течение 20 минут; 95% этанола, 5% деионизированной H₂O в течение 20 минут; 100% этанола, 0% деионизированной H₂O в течение 60 минут. Обработку 100% этанолом повторяют еще 2 раза перед хранением образцов в 100% этаноле.

Чтобы сохранить целостность микроструктуры биоматов для FE-SEM, этанольную промывку/дегидратацию сопровождают высушиванием в критической точке с применением сушилки в критической точке Tousimis Samdri-795 в соответствии с инструкциями производителя (Tousimis Samdri-795 Operations Manual; Tousimis, Rockville, MD). После высушивания в критической точке образцы либо устанавливают непосредственно на алюминиевые стержни, либо перед установкой разрезают на секции толщиной <0,3 мм лезвием бритвы. Затем образцы покрывают иридием (20 мкм, EMI TECH K575X, Electron Microscopy Sciences, Hatfield, PA) и исследуют на JEOL 6100 FE-SEM с применением энергии падающего луча 1 кэВ (JEOL USA, Inc., Peabody, MA).

Изображение FE-SEM показало сложную сеть переплетенных нитей гиф (фигура 10), очень похожую на структуру, обнаруженную при оптической микроскопии для биоматов, выращенных на глицерине, как описано в PCT/US2017/020050. Наблюдают три различных слоя: (а) слой гиф воздушного мицелия на верхней поверхности, (b) плотный нижний слой и (c) переходный слой между верхним и нижним слоями. Переходный слой неплотно прикреплен к плотному нижнему слою, что позволяет легко отделить нижний слой от остальной части биомата. Плотность волокон переходного слоя варьируется от немного менее плотной, чем нижний слой в зоне, где встречаются два слоя, до плотности, которая сопоставима с гифами воздушного мицелия в верхней части биомата.

Иссеченные образцы также готовят для оптической микроскопии медленным погружением в следующие растворы в указанном ниже порядке и времени:

Ксилол, 3 мин; Ксилол, 3 мин; 100% этанол, 3 мин; 100% этанол, 3 мин; 95% этанол, 3 мин; 95% этанол, 3 мин; 70% этанол, 3 мин; Деионизированная вода, 3 мин; Гематоксилин 1, 1,5 мин; Ополаскивание проточной водопроводной водой, 1 мин; Раствор осветлителя, 1 мин; Ополаскивание проточной водопроводной водой, 1 мин; Подсиняющий раствор, 1 мин; Ополаскивание проточной водопроводной водой, 1 мин; 70% этанол, 30 погружений; 95% этанол, 30 погружений; 95% этанол, 30 погружений;

100% этанол, 30 погружений; 100% этанол, 30 погружений; 100% этанол, 30 погружений; Ксилол, 30 погружений; Ксилол, 30 погружений; Ксилол, 30 погружений; Применяют покровное стекло.

Срезы биоматов размером примерно 2 см² вырезают из свежих биоматов с помощью бритвенного лезвия непосредственно перед сбором. Эти срезы затем погружают в 35 мл деионизированной воды в 50 мл центрифужные пробирки с коническим дном. Пробирки обрабатывают ультразвуком (CP200T Ultrasonic Cleaner, Crest Ultrasonics, Ewing, NJ) в течение 0, 40, 90 или 150 секунд для диспергирования нитей в жидкости и обеспечения возможности исследования под микроскопом. Аликвоты жидкости (~100 мкл) из этих пробирок помещают на предметное стекло, покрывают покровным стеклом и исследуют с помощью оптического микроскопа (B400B, Amscope, Irvine, CA) при 100x увеличении. Средняя длина (стандартное отклонение) неразрывных нитей измеряют и определяют как 1,1 (0,6), 1,2 (0,4), 1,0 (0,4) и 1,2 (0,2) мм для 0, 40, 90 и 160 секундной обработки ультразвуком, соответственно. Максимальная длина нити, наблюдаемая при каждой обработке, составляет 2,5, 1,4, 1,8, и 1,4 мм, соответственно. Эти длины нитей значительно больше по сравнению с ростом штамма *Fusarium* МК7 в культурах в погруженных встряхиваемых колбах, где средняя длина составляет менее 0,02 мм.

Пример 8: Получение куриных наггетов с использованием биоматов *Fusarium* штамма МК7, выращенных на смеси глицерина, крахмала и кукурузного экстракта

Биомат *Fusarium* штамм МК7, полученный, как описано выше, используют для получения куриных наггетов. Влажные биоматы обрабатывают паром в пароварке при 97°C в течение 0,5 ч, охлаждают до комнатной температуры и используют в качестве основы для получения куриных наггетов. Пропаренный влажный биомат (200 г) измельчают на куски длиной менее 0,5 мм и гомогенизируют с 4% (масс./масс.; 8 г) куриной основой и 4% протеином яичного белка (8 г). Полученная смесь содержит более чем 90% биомата *Fusarium* штамма МК7. Порциям этой биоматной смеси (~30 г) придают форму наггетов и пропаривают в пароварке. Полученные наггеты панируют, покрывая яичным белком и затем смешивая с панировочными сухарями, которые прилипают к поверхности перед жаркой. Полученный наггет имеет текстуру, напоминающую куриное мясо, и источает типичный аромат курицы. Тестирование вкуса 5 людьми выявило, что наггет близко имитирует настоящие куриные наггеты, содержание курицу, с точки зрения вкуса и текстуры.

Пример 9: Получение экстракт биомата *Fusarium* штамма МК7.

Высоко концентрированные и вязкие экстракты получают из биоматов *Fusarium* штамма МК7. Биоматы, собранные через 4-16 дней культивирования, как описано выше, промывают и обрабатывают паром, просушивают в пористой пластиковой сетке в течение 5 минут, помещают в пластиковые пакеты и герметично запечатывают. Герметично запечатанные пакеты замораживают либо при -20°C, либо при -80°C в течение 24 часов, затем инкубируют при 60°C в инкубаторе в оригинальных герметично запечатанных пакетах в течение 48 часов после корректировки pH оставшейся жидкой среды до pH 4-6.

После термообработки, биоматы прессуют через фильтры с размером пор <1,5 мм, и полученную жидкость собирают. Собранную жидкость кипятят в течение 10 минут в не реакционном сосуде, затем сушат при 60°C до тех пор, пока содержание воды не достигнет ~6-8%, с получением липкого пастообразного экстракта. Пищевая ценность экстракта аналогична пищевой ценности пропаренного биомата и муки, приготовленной из пропаренных биоматов.

Пример 10. Производство йогурта из биоматов *Fusarium* штамма МК7, выращенных на кислой молочной сыворотке.

Биомат *Fusarium* штамма МК7 используют непосредственно для производства йогурта. Биоматы выращивают в лотках на сырье из кислой сыворотки/источнике углерода, которые образуются в качестве побочного продукта производства греческого йогурта, собирают через 6 дней и пропаривают в течение 20 минут после сбора. 200 г охлажденной влажной биомассы смешивают с 600 г водопроводной воды питьевого для получения молокоподобной суспензии, обозначенной как «жидкая дисперсия МК7». Жидкую дисперсию МК7 используют в качестве ингредиента саму по себе или в сочетании с коровьим молоком для производства йогурта.

Готовят три смеси, содержащие различные соотношения жидкой дисперсии МК7 и цельного молока: 1) 25% жидкой дисперсии МК7:75% цельного молока, 2) 50% жидкой дисперсии МК7:50% цельного молока и 3) 100% жидкой дисперсии МК7. Смеси используют для приготовления трех партий йогурта, нагревая каждую смесь до 83°C и выдерживая при этой температуре 14 минут при постоянном перемешивании. Смесь охлаждают до 43°C, затем добавляют живые йогуртовые культуры в качестве инокулята. Полученную смесь инкубируют при 44°C в йогуртницах (Model YM80; EuroCuisine, Los Angeles, CA) в течение 8 часов. Все полученные смеси имеют внешний вид и текстуру йогурта, а также запах и вкус похож на типичный йогурт.

Пример 11: Выращивание грибных биоматов на глицерине.

Биомассу биоматов, состоявших незрелых двуспоровых шампиньонов *Baby Bella* (*Agaricus bisporus*) и белых грибов получают в течение всего 10 дней с использованием глицерина в качестве основного источника углерода (сырья). Эти обычные съедобные грибы покупают в супермаркете Albertson в Vozeman, MT, и хранят при 4°C. Среда, используемая для выращивания грибов, состоит из 1 л 7,5% глицерина с солями МК7-1 (описанными в PCT/US2017/020050), которые кипятят в течение 10 минут с последующим охлаждением до комнатной температуры (~23°C). pH смеси доводят до 2,7, и 200 мл смеси со скорректированным pH выливают в два стерильных 12,7×17,8 см лотка Pyrex®. Инокулят, состоящий из 5 г смешанных шампиньонов или белых грибов со стерилизованной поверхностью, добавляют к среде в каждом лотке. Инокулят грибов готовят следующим образом: 1) 10 г влажных шампиньонов или белых грибов добавляют к 200 мл 5% раствора отбеливателя и суспензию перемешивают в течение 2 минут для стерилизации поверхности грибов, 2) затем грибы ополаскивают путем переноса в 200 мл стерильной среды глицерин/соли МК7-1 (описанной в PCT/US2017/020050) и

перемешивают в течение 2 минут; 3) грибы со стерилизованной поверхностью перемешивают в течение 30 секунд в кофемолке, которую стерилизуют ополаскиванием 70% этанолом, 4) измельченную биомассу грибов (агрегаты длиной <5 мм) снова стерилизуют, повторяя стадии 1 и 2 с измельченной биомассой, 5) 5 граммов измельченной биомассы грибов добавляют к жидкой среде в лотках Ругех® (конечный рН=4,0-4,1 после добавления грибов) и 6) подносы закрывают и оставляют для инкубации при комнатной температуре ($22 \pm 2^\circ\text{C}$) в темноте.

Развитие биоматов наблюдают на поверхности среды через 3 дня инкубации, и консолидированные биоматы собирают через 10 дней роста. Биоматы несозревших шампиньонов покрывают всю поверхность жидкой среды в лотке, а биоматы белых грибов покрывают приблизительно 1/2 жидкой среды в виде пяти плавающих островков биомата. Средняя толщина биоматов составляет 1,5 мм для шампиньонов и 1,7 мм для белых грибов. Биомассу биоматов сушат при 50°C в течение 48 ч, и сухой вес, полученный в лотке, составляет 1,14 г и 2,12 г для шампиньонов и белых грибов, соответственно. Плотность в пересчете на сухой вес сухой биомассы биоматов составляет 0,033 и 0,111 г/см³ для шампиньонов и белых грибов, соответственно.

Микроскопические изображения показали мицелиальную природу биоматов. Средние толщины гиф были 25,2 мкм (стандартное отклонение=6,2) и 18,7 мкм (4,0) для биоматов для шампиньонов и белых грибов, соответственно.

Полученные биоматы шампиньонов используют для получения куриных наггетов. Биоматы обрабатывают паром при 97°C в течение 0,5 часа, охлаждают до комнатной температуры и используют в качестве основы для производства куриных наггетов. Пропаренную влажную биомассу (2,5 г) смешивают с 3% (масс./масс.; 75 мг) куриной основой Better Than Bouillon (Southeastern Mills, Inc. Rome, GA) и 3% протеина яичного белка (75 мг; Now Foods, Bloomingdale, IL) и нарезают бритвой на кусочки длиной менее 2 мм. Из смеси формируют гранулы и готовят на пару в течение 0,5 часа. Приготовленный наггет обладает типичным ароматом курицы с легким грибным ароматом. На вкус наггет имеет куриный или нейтральный вкус.

Пример 12. Выращивание грибных биоматов на солодовых и глицериновых средах.

Биомассу биоматов, состоящих из *Calvatia gigantea* (головач гигантский), *Pleurotus ostreatus* (устричная вешенка), *Pleurotus ostreatus* var. *columbinus* (устричный гриб), *Hypsizygus ulmarius* (гипсизигус ильмовый), *Sparassis crispa* (спарассис кудрявый) и *Ganoderma lucidum* (рейши), получают всего за 5 дней с использованием среды с солодовым экстрактом 001, глицериновой среды 002, среды Хансена, среды МК7-SF, среды солодовый экстракт+NH₄NO₃ 003 (Таблица 3). Все конечные среды содержат 0,01% хлорамфеникола.

Таблица 3. Ингредиенты, добавленные в деионизированную или питьевую водопроводную воду для приготовления питательной среды.

Среда с солодовым экстрактом 001

Ингредиент	Количество	Сорт	Лот #	Поставщик	Место нахождения
Светлый пльзеньский солод	40,0 г	Пищевой	180526B	Homebrewstuff.com	Boise, ID
Пептон	4,0 г	Для исследований	44984-57374	Research Products International	Mt. Prospect, IL
Порошок дрожжевого экстракта	1,2 г	Для исследований	53852-66581	Research Products International	Mt. Prospect, IL
Рапсовое масло	1,0 мл	Пищевой	SEP/25/19 CA S3283	Better Living LLC	Pleasanton, CA
Молотый овес	4,0 г	Пищевой	Jan 25, 2020 I2M 06:36	Walmart-Stores, Inc	Bentonville, AR
Водопроводная H ₂ O	1000 мл	Н/Д	Н/Д	Н/Д	Bozeman, MT
Среда с глицерином 002					
Ингредиент	Количество	Сорт	Лот #	Поставщик	Место нахождения
Глицерин	40,0 г	Пищевой/ USP	20149018137 001	Duda Energy LLC	Decatur, AL
Пептон	4,0 г	Реагент	44984-57374	Research Products International	Mt. Prospect, IL
Порошок дрожжевого экстракта	1,2 г	Реагент	53852-66581	Research Products International	Mt. Prospect, IL
Рапсовое масло	1,0 мл	Пищевой	SEP/25/19 CA S3283	Better Living LLC	Pleasanton, CA
Молотый овес	4,0 г	Пищевой	Jan 25 2020 I2M 06:36	Walmart-Stores, Inc	Bentonville, AR
Водопроводная H ₂ O	1000 мл	Н/Д	Н/Д	Н/Д	Bozeman, MT

Среда Хансена					
Ингредиент	Количество	Сорт	Лот #	Поставщик	Место нахождения
Пептон	1,0 г	Реагент	44984-57374	Research Products International	Mt. Prospect, IL
$\text{KH}_2\text{PO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,3 г	Реагент	Производит ель. не использует лоты	Eisen-Golden Laboratories	Dublin, CA
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	2,0 г	USP	81721	San Francisco Salt Co.	San Leandro, CA
Глюкоза	5,0 г	Реагент	0435C235	Fisher Scientific	Denver, CO
Водопроводная H_2O	1000 мл	Н/Д	Н/Д	Н/Д	Bozeman, MT
Среда МК7-SF					
Ингредиент	Количество	Сорт	Лот #	Поставщик	Место нахождения
NH_4NO_3	7,553 г	ACS	A0390194	Acros Organics	Somerville, NJ
Мочевина	2,548 г	USP	30570-67229	Research Products International	Mt. Prospect, IL
CaCl_2	2,000 г	Реагент	102615	Fritz Pro Aquatics	Mesquite, TX
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	2,000 г	USP	81721	San Francisco Salt Co.	San Leandro, CA
KH_2PO_4	7,500 г	Реагент	Производит ель. не использует лоты	Eisen-Golden Laboratories	Dublin, CA
Следы*	2,000 мл	*	*	*	*
Глицерин	0,075 кг	Пищевой/	20149018137	Duda Energy	Decatur, AL

		USP	001	LLC	
Дрожжевой экстракт	1,750 г	Для исследования	53852-66581	Research Products International	Mt. Prospect, IL
FeCl ₂ *4H ₂ O	0,020 г	Реагент	951164	Fisher Scientific	Fair Lawn, NJ
ДИ H ₂ O	0,940 л	Н/Д	Н/Д	Н/Д	Bozeman, MT
Следовые компоненты*					
Микроэлементы*	мг/л	Сорт	Лот #	Поставщик	Место нахождения
FeSO ₄ •7H ₂ O	9,98	ACS	3562C398	Amresco	Solon, OH
ZnSO ₄ •7H ₂ O	4,4	USP/FCC	61641	Fisher	Waltham, MA
MnCl ₂ •4H ₂ O	1,01	Реагент	13446-34-9	Fisher	Waltham, MA
CoCl ₂ •6H ₂ O	0,32	Реагент	7791-13-1	Fisher	Waltham, MA
CuSO ₄ •5H ₂ O	0,31	Технический	114675	Fisher	Waltham, MA
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ •4H ₂ O	0,22	ACS	68H0004	Sigma	St. Louis, MO
H ₃ BO ₃	0,23	ACS	103289	Fisher	Waltham, MA
ЭДТК, свободная кислота	78,52	Электрофорез	46187	Fisher	Waltham, MA
Среда с солодовым экстрактом+NH₄NO₃ 003					
Ингредиент	Количество	Сорт	Лот #	Поставщик	Место нахождения
NH ₄ NO ₃	5,0 г	ACS	A0390194	Acros Organics	Somerville, NJ
Светлый пльзеньский	40,0 г	Пищевой	180526B	Homebrewstuff.com	Boise, ID

СОЛОД					
Пептон	4,0 г	Для исследования	44984-57374	Research Products International	Mt. Prospect, IL
Порошок дрожжевого экстракта	1,2 г	Для исследования	53852-66581	Research Products International	Mt. Prospect, IL
Рапсовое масло	1,0 мл	Пищевой	SEP/25/19 CA S3283	Better Living LLC	Pleasanton, CA
Молотый овес	4,0 г	Пищевой	Jan 25 2020 I2M 06:36	Walmart-Stores, Inc	Bentonville, AR
Водопроводная H ₂ O	1000 мл	Н/Д	Н/Д	Н/Д	Bozeman, MT

Рецепты, приведенные выше в Таблице 3, используют для приготовления среды либо в 2 л бутылках Ругех®, либо в 8 л горшках из нержавеющей стали путем смешивания указанных ингредиентов с определенными объемами воды, в зависимости от желаемого объема среды. Ингредиенты добавляют в воду при непрерывном перемешивании жидкости с помощью мешалки или ложки. Каждый компонент среды тщательно вмешивают в жидкость перед добавлением следующего компонента, рН среды МК7-SF доводят до 5,0 и растворы автоклавируют. Все остальные значения рН являются результатом простого смешивания ингредиентов. Среду и сосуды автоклавируют в течение, по меньшей мере, 20 минут при 20 ф./кв.д. и 121°C. Осмотическое давление (в виде осмоляльности) жидкости измеряют с использованием осмометра Advanced Instruments, Inc., модель 3250 (Two Technology Way, Norwood, MA).

После автоклавирования, среду охлаждают до комнатной температуры и отдельные сосуды инокулируют видами грибов, показанными в таблице 4.

Таблица 4. Споры грибов (шприцы объемом 10 см³) покупают у MycoDirect (12172 Route 47, Ste 199 Huntley, IL 60142) и получают 2 августа 2018 г. Споры Гипсизигуса ильмового покупают у Everything Mushrooms (1004 Sevier Ave Knoxville, TN 37920) и получают 3 августа 2018.

	Лот	Дата производства компаний
Устричный гриб	3-П7	2-2018
Устричная вешенка	9П8	12-2017
Головач гигантский	Н/Д	3-2018
Спарассис кудрявый	Н/Д	4-2018

Гипсизигус ильмовый (1 см³, сушеный) Н/Д 10-2017

Инокуляция среды для выращивания проводят с использованием следующих способов, применяемых с асептической методикой. Вся асептическая работа в этих экспериментах проводится в шкафу биобезопасности II класса. Шприцы для спор используют для прямого инокулирования примерно 75 мл среды для выращивания в предварительно автоклавированных 12,7 × 17,8 см стеклянных лотках Ругех®. Это осуществляется асептическим переносом жидкой среды в автоклавированный лоток Ругех®, позволяя среде остыть до комнатной температуры и инокулируя 2 см³ суспензии, содержащейся в шприце для спор. Лоток покрывают стерильной алюминиевой фольгой, а затем осторожно крутят для перемешивания инокулированной среды.

Чашки с агаром с солодовым экстрактом (МЕА; таблица 5) готовят в асептических условиях путем автоклавирования МЕА, охлаждают до 50°C и выливают ~25 мл в 100×15 мм стерильные чашки Петри.

Таблица 5. Ингредиенты, используемые для приготовления агара с солодовым экстрактом

Среда с солодовым экстрактом (МЕА)					
Ингредиент	Количество	Сорт	Лот #	Поставщик	Место нахождения
Светлый пльзеньский солод	30,0 г	Пищевой	180526 В	Homebrewstuff.com	Boise, ID
Агар	20,0 г	Микробиологический	2170501	BD	Sparks, MD
Водопроводная H ₂ O	1000 мл	Н/Д	Н/Д	Н/Д	Bozeman, MT

Чашки с МЕА инокулируют аликвотированием 1 см³ жидкости из суспензии, содержащейся в шприце для спор, в чашки. Затем чашку с агаром герметично закрывают Parafilm® и помещают в чистый темный ящик при комнатной температуре.

После того, как мицелий покрывает всю поверхность чашек МЕА, их используют для инокуляции 1,5 л среды в 2-литровых колбах для встряхивания с перегородками. Приблизительно 2 см² порции среды с агаром с мицелием на поверхности иссекают из чашек стерильным лезвием бритвы и разрезают на части размером ~2 мм², которые затем добавляют в две колбы, содержащие 1,5 л среды с солодовым экстрактом 001. Среду инкубируют в течение 3 дней при комнатной температуре (23 ± 1°C) с периодическим встряхиванием вручную (колбы энергично встряхивают вручную в течение 1 минуты как минимум пять раз в день).

Культуры в колбах для встряхивания затем используют в качестве инокулята для 6 л среды с солодовым экстрактом 001 и 6 л среды с солодовым экстрактом+NH₄NO₃ 003. В

среду инокулируют 15% (об.:об.) культуры инокулята и тщательно перемешивают. Два литра инокулированной среды выливают в каждый из трех 0,25 м² пластиковых лотков по, которые помещают в стойку для лотков. Стойки оборачивают в Sagan® и инкубируют в течение 6 дней. Относительно плотные биоматы покрывают всю поверхность в течение 4 дней, и биоматы собирают через 6 дней.

Биоматы из 12,7×17,8 см стеклянных лотков Ругех® и 0,25 м² пластиковых лотков собирают, поднимая биоматы с лотков и осторожно сдавливая вручную. Порции биоматов (3-50 г) в течение 20 минут обрабатывают кипящей водой (~5 см над поверхностью воды) в пароварке, установленной на горелке кухонной плиты. После пропаривания, биомассу охлаждают до комнатной температуры и сразу же помещают в пакеты Ziploc® и отправляют в Eurofins (Des Moines, IA) для анализа белка (N через сжигание, Код теста QD252).

Таблица 6. Результаты роста ряда различных нитевидных грибов в лотках в различных типах сред

Среда	Размер лотка (м ²)	Исходный рН среды	С: N	Ионная сила (ммоль/л)	Осмотическое давление (мОсм/кг)	Время (дни)	Конечный рН свободной жидкости	Биомасса на площадь поверхности (г/м ²)	Плотность (г/см ³)	Предел прочности влажного биомата (г/см ³)
<i>Головач гигантский</i>										
Солод 001	0,022	6,28	19	33,1	169	5,7	5,62	71,4	0,057	314,1
Глицерин 002	0,022	6,96	30	13,6	505	5,7	5,54	40	0,04	214,9
Хансен	0,022	8,81	27	30,7	39	н/д	н/д	н/д	н/д	н/д
МК7-SF	0,022	4,91	7,5	344	1387	9,0	5,07	178,6	0,045	135,0
Солод 001	0,25	6,96	19	33,1	169	6,2	6,25	111,1	0,037	264,0
Солод+NH ₄ N O ₃ 003	0,25	6,88	7,5	145,1	287	5,8	н/д	108,3	0,11	281,1
<i>Спарассис кудрявый</i>										
Солод 001	0,022	6,28	19	33,1	169	6,7	4,44	146,7	0,073	507,83
Глицерин 002	0,022	6,96	30	13,6	505	6,7	5,77	24,2	0,012	242,91
Хансен	0,022	8,81	27	30,7	39	Н/Д	Н/Д	Н/Д	Н/Д	Н/Д
МК7-SF	0,022	4,91	7,5	344	1387	Н/Д	Н/Д	Н/Д	Н/Д	Н/Д
Солод 001	0,25	6,96	19	33,1	169	Н/Д	Н/Д	Н/Д	Н/Д	Н/Д

Солод 001	0,022	6,28	19	33,1	169	10	5,21	111,6	0,032	143,67
Глицерин 002	0,022	6,96	30	13,6	505	Н/Д	Н/Д	Н/Д	Н/Д	Н/Д
Хансен	0,022	8,81	27	30,7	39	Н/Д	Н/Д	Н/Д	Н/Д	Н/Д
МК7-SF	0,022	4,91	7,5	344	1387	Н/Д	Н/Д	Н/Д	Н/Д	Н/Д
<i>Рейши</i>										
Солод 001	0,022	6,28	19	33,1	169	6,7	4,59	0,006	0,13	101,05
Глицерин 002	0,022	6,96	30	13,6	505	6,7	4,54	Н/Д	Н/Д	Н/Д
Хансен	0,022	8,81	27	30,7	39	Н/Д	Н/Д	Н/Д	Н/Д	Н/Д
МК7-SF	0,022	4,91	7,5	344	1387	Н/Д	Н/Д	Н/Д	Н/Д	Н/Д

Пример 13. Штамм *Fusarium* МК7 куриный наггет

Fusarium штамм МК7 с вкусом курицы является основным ингредиентом для многих рецептов, включая куриные наггеты, с или без панировки, курицу для азиатских блюд, или другие куриные блюда в качестве замены курицы. Биоматы *Fusarium* штамм МК7, полученные из различного сырья/источников углерода, дают несколько разных привкусов курицы. Курица с глицерином слаще, а курица с кислой сывороткой имеет тенденцию быть немного кислее.

Объем обработки пищевых продуктов и используемое лезвие (т.е., острое металлическое лезвие, тупое металлическое лезвие, пластиковое лезвие) дают разные текстуры куриных наггетов. Кроме того, приемлемые куриные наггеты могут быть получены из биомассы самых разных размеров. То есть биомассу можно разрезать ножом, подвергать легкой пищевой обработке или сильной пищевой обработке, и при этом получать приемлемые аналоги курицы.

50-20:1:1 отношение *Fusarium* штамма МК 7:куриного сырья:связующего агента применяют с или без приблизительно соотношением 66,6% *Fusarium* штамма МК7:жиру. Подходящие жиры включают утиный жир, кокосовое масло и масло какао. После перемешивания, смесь пропаривают в течение приблизительно 30 минут, чтобы установить связующий агент; однако для некоторых связующих может потребоваться больше или меньше времени. Затем можно добавить дополнительную панировку и обработать полученные наггеты как принято для таких пищевых продуктов.

Пример 14: Колбаса для завтрака и/или хот-дог и/или бургер

Соответствующую смесь специй добавляется к биоматам *Fusarium* штамма МК7 уменьшенного размера, как необходимо для получения желаемых вкусов, что может составлять от 10% масс. смеси специй к количеству *Fusarium* штамма МК7 до 20%, часто в соотношении 10 *Fusarium* штамм МК7:1 смесь специй с или без дополнительных ингредиентов, таких как лук, связующие агенты и жир, такой как масло какао. Затем смесь обжаривают для удаления подходящего количества влаги. Затем добавляют дополнительные ингредиенты, такие как булгур, овощной бульон, картофель и т. д., до придания желаемой формы и приготовления.

Пример 15: Мороженое и мусс

Получают соотношение примерно 1:3 биомат *Fusarium* штамма МК7:вода, имеющее размер частиц со средней длиной волокна менее 900 микрон. Эту смесь осторожно нагревают до тех пор, пока запах грибов не исчезнет, и затем используют в соотношении примерно 4:1 с кешью, необязательно, с соответствующим количеством ксантановой камеди и/или ароматизатора, с получением смеси, которая может быть необязательно нагрета а затем охлаждена до образования мусса. Для замороженного десерта, смесь затем помещают в машину для взбивания мороженого и после взбивания замораживают с образованием не тающего замороженного десерта.

Пример 16: Производство трюфельного масла из биоматов трюфеля.

Масляный экстракт может быть получен из биоматов трюфеля (*Tuber* sp.),

выращенных как описано выше. В одном случае, биоматы трюфеля выращивают в лотках всего за 7 дней с использованием солодового экстракта, глюкозы и пептона в качестве первичных источников углерода (сырья). Съедобный гриб трюфель покупают у IGB Trading LLC на Amazon Marketplace и хранят при 4°C. Чистую культуру гриба *Tuber* sp. получают из купленного трюфеля, помещая порции трюфеля размером ~3 мм³ (разрезанные стерильным лезвием бритвы) на агар с солодовым экстрактом+0,01% хлорамфеникол (используемый для подавления роста бактерий). Агар с солодовым экстрактом получали смешиванием 20 г солодового экстракта, 20 г глюкозы, 1 г пептона и 20 г агара в 1 л деионизированной воды, затем автоклавируют в течение 30 минут и охлаждают до 50°C перед добавлением 0,01% хлорамфеникола. Затем стерильную смесь выливают в чашки Петри диаметром 9 см и дают остыть и затвердеть.

Рост гриба на лотках наблюдают через 3 дня. Через 4 дня роста гифы собирают стерильной микробиологической петлей и высевают штрихом на свежий набор чашек с агаром с солодовым экстрактом+хлорамфениколом. Грибу дают расти на указанных чашках в течение 5 дней, после чего гифы собирают микробиологической петлей и используют для подтверждения чистоты культуры секвенированием ДНК. Подтверждение выполняют путем экстрагирования и очистки ДНК (FastDNA Spin Kit, MP Biomedicals) и секвенирования ITS области метагенома с последующей филогенетической классификацией последовательностей с использованием Blast (база данных NCBI).

Бульон с солодовым экстрактом готовят смешиванием 20 г солодового экстракта, 20 г глюкозы и 1 г пептона в 1 л деионизированной воды и стерилизуют. Соскобы гиф микробиологической петлей также используют для инокуляции 50 мл стерильного бульона с экстрактом солода в стерильных колбах для встряхивания с перегородками, закрытых стерильным марлевым материалом. Используют стерильную марлю, поскольку она позволяет газообмен в и из колбы для встряхивания. Затем колбы для встряхивания вращают со скоростью 185 об/мин в течение 5 дней. Повернутые культуры затем используют для инокуляции 350 мл стерильного бульона солодового экстракта в стерильных 12,7 x 17,8 см стеклянных лотках Rughex®. Плотность инокулята для этой культуральной среды составляет 7,5% инокулята на 92,5% бульона. Через 7 дней роста в лотках, образовавшийся на поверхности нитевидный биомат собирают путем подъема биомата из жидкой среды. Собранные биоматы сушат при температуре 40°C в течение 48 ч. Жиры/масло из этих собранных биоматов экстрагируют либо механическим прессованием, либо экстракцией растворителем с использованием гексана, хотя можно использовать другие методики экстракции.

Пример 17: Мука МК7.

Биомат *Fusarium* штамм МК7, полученный как описано выше, используют для создания высушенного порошка с размером частиц и распределением частиц по размерам, аналогичными стандартной хлебопекарной муке. Здесь влажные биоматы пропаривают в пароварке при 97°C в течение 0,5 часа, охлаждают до комнатной температуры и дегидратируют в дегидрататоре Cuisinart (модель DHR-20) в течение 2-8 часов, при этом

среднее время обезвоживания составляет 4 часа. Время дегидратации зависит от количества биомассы, загруженной в дегидратор, распределения биоматов в дегидраторе, которое влияет на поток воздуха в дегидраторе, и содержания воды в биоматах (среднее содержание воды приблизительно 75%) и комнатной температуры. Содержание воды после дегидратации колеблется от 4 до 14%, при этом среднее содержание воды после дегидратации составляет менее 12%. Размер дегидратированной биомассы уменьшают с использованием кофемолки (KRUPS, электрическая кофемолка для кофе и специй, лезвия из нержавеющей стали F2034251) до мелкого помола. Средний размер частиц измельченной биоматной муки составляет от 75 до 120 микрон. Небольшая фракция более крупных частиц, приблизительно 5% масс., имеет размер более 180 микрон. Небольшая фракция более мелких частиц, приблизительно 5% масс. имеет размер частиц менее 75 микрон. Указанные более мелкие частицы имеют размер, который позволяет мелким частицам оставаться в воздухе в течение продолжительных периодов времени. Размер частиц определяют просеиванием 100 грамм образцов биоматов уменьшенного размера в течение 5 минут в ситах с отверстиями 180 мкм, 120 мкм и 75 мкм. Содержание воды после дегидратации и последующего измельчения ниже 6% является предпочтительным, поскольку более высокое содержание воды может привести к слипанию высушенной и измельченной биомассы.

Биоматную муку затем используют как добавку к другой стандартной муке (муке King Arthur, муке Bob's Red Mill и пшеничной муке Bob's Red Mill) и различным готовым хлебобулочным изделиям. Биоматную муку загружают при 5% масс., 10% масс., 20% масс. и 30% масс. без какого-либо вредного воздействия на вкус, подъем, текстуру, внешний вид или запах конечной выпечки. Продемонстрированные продукты включают хлеб (7 злаков, белый и пшеничный), выпечку (Pate a Choux), печенье, макароны и пельмени. Полученные продукты показали хорошие результаты во вкусовых тестах, и включение муки штамма МК7 не было обнаружено теми, кто дегустировал продукты.

Пример 18: Добавка МК7

Биомат *Fusarium* штамм МК7, полученный как описано выше, используют для создания частиц биомассы, которые применяют в качестве добавки к мясу и рыбе в качестве наполнителя (т.е. для увеличения общего количества пищевого продукта добавлением штамма МК7 к другим выходящим продуктам питания). Влажные биоматы пропаривают в пароварке при 97°C в течение 0,5 часа, охлаждают до комнатной температуры. Размер биоматов уменьшают (например, измельчают ножом или подвергают обработке в кухонном комбайне) до желаемого распределения частиц по размерам. Затем к различным пищевым продуктам добавляют биомассу уменьшенного размера, чтобы увеличить количество мяса в случае мясного наполнителя или рыбы в случае рыбного наполнителя. В качестве примера увеличения количества мяса, к мясу для гамбургеров добавляют 10%, 20%, 30%, 40% и 50% биомассы с уменьшенным размером. Уменьшение размера биомассы оценивают во множестве распределений по размерам. Меньшие размеры частиц имеют тенденцию давать более плотную и кремовую текстуру.

Более крупные частицы, как правило, дают продукты с более грубой текстурой, более приятным ощущением во рту и требуют большего жевания перед проглатыванием. Увеличенное мясо обрабатывают так, как без добавления биомассы. В случае увеличения гамбургера, могут быть необязательно добавлены специи или связующие вещества, и из увеличенного мяса формируют котлету или мясной шарик и готовят до тех пор, пока мясо не будет приготовлено до желаемой для потребителя температуры. Способы приготовления включают плиту, духовку, жарку и гриль. Вкусовые испытания показали, что приемлемые пищевые продукты получаются при всех уровнях добавления и при любом распределении по размерам добавленной биомассы. Увеличение курицы и свинины также было опробовано при одинаковых уровнях добавления с аналогичными результатами приготовления и дегустации.

Увеличение рыбы также было продемонстрировано при загрузке 10%, 20%, 30% и 40%. Рыбное филе и рыбные шарики получают добавлением обработанного штамма МК7 с различным распределением частиц по размерам, начиная от мелких частиц (менее 1,0 мм) и заканчивая крупными частицами (более 2 мм), без вредного воздействия на вкус, цвет, запах или общее впечатление от еды. В случае добавок с небольшим размером частиц, полученные пищевые продукты имеют более кремовую консистенцию. В случае добавок с крупными размером частиц, полученные пищевые продукты имеют более плотную консистенцию, характеризующуюся более крупными частицами, которые требуют большего пережевывания перед проглатыванием. Тестирование вкуса показало, что приемлемые пищевые продукты были произведены на всех тестируемых уровнях добавления и распределения по размерам.

Пример 19: Джерки МК7

Биомат *Fusarium* штамма МК7, полученный как описано выше, используют для создания микоджерки, сходного по внешнему виду и вкусу с мясным джерки (т. е. говяжьим джерки, буйволиным джерки, свиным джерки, куриным джерки, джерки из индейки и т.д.). Влажные биоматы пропаривают в пароварке при 97°C в течение 0,5 часа, охлаждают до комнатной температуры. Размер биоматов уменьшают до размера, соответствующего тому, который обычно содержится в вяленых продуктах. Куски биомата уменьшенного размера в некоторых случаях приправляют для вкуса и дегидратируют в дегидрататоре Cuisinart (модель DHR-20) в течение 20-200 минут со средним временем дегидратации 40-120 минут. Время дегидратации зависит от количества биомассы, загруженной в дегидрататор, распределения биоматов в дегидрататоре, которое влияет на поток воздуха в дегидрататоре, содержания воды в биоматах (среднее содержание воды примерно 75%), комнатной температуры и желаемого содержания воды в конечном продукте. Содержание воды после дегидратации варьируется от 8% до 12% в зависимости от желаемых характеристик продукта. В некоторых случаях, перфорация биомассы перед дегидратацией дает продукт, который легче разрывается на мелкие кусочки, что упрощает потребление. Перфорацию биомассы выполняют с помощью вилки, ножа или размягчителя, которые и перфорируют биомассу, и разрушают сеть

нитей, так что они легче рвутся. Оценивают разнообразные смеси специй (например, каджун, сыр, соя, уксус, травы, сметана и лук, жидкий дым, веганские мясные вкусы и т. д.). Смеси специй оценивают как до дегидратации, так и после дегидратации. Те образцы, которые были приправлены до дегидратации, имели больший вкус и лучше прилипали к биомассе, чем образцы, обработанные после дегидратации. Все полученное джерки показало хорошие результаты во вкусовых тестах.

Пример 20: Мико-чипсы

Биомат *Fusarium* штамм МК7, полученный как описано выше, используют для чипсов, подобных по внешнему виду и вкусу картофельным чипсам или кукурузным чипсам. Влажные биоматы пропаривают в пароварке при 97°C в течение 0,5 часа, охлаждают до комнатной температуры. Размер биоматов уменьшают до размера, соответствующего тому, который обычно содержится в чипсах, а также сильно перерабатывают в пасту и формируют в форме чипсов. Затем мико-чипсы кладут на сковороду с горячим маслом (температура примерно 380°F) до коричневого цвета. Время приготовления варьируется в зависимости от геометрии биомассы, но является очень коротким, обычно менее 15 секунд. Полученные жареные чипсы оказались очень аппетитными и способны предложить широкий спектр вкусовых ощущений в зависимости от специй, добавленных к предварительно обжаренной биомассе или покрывающих ее.

Таблица 8: Данные о пищевой ценности *Pleurotus eryngii*

Название вида	<i>Pleurotus eryngii</i>
Распространенное имя	Вешенка степная
Штамм и источник	Blue - Mycodirect
Результаты ДНК	Положительный ID
Дата сбора	06.08.18
Среда	Солод 001
ммоль/л	33,1
Осмоляльность (мОсм)	169
Отношение C:N	19
Белок	19,38%

Таблица 9: Данные о питательной ценности *Sparassis crispa*

Название вида	<i>Sparassis crispa</i>	<i>Sparassis crispa</i>	Sparassis crispa	Sparassis crispa
Распространенное имя	Спарассис кудрявый	Спарассис кудрявый	Спарассис кудрявый	Спарассис кудрявый
Штамм и источник	Amazon	Mycodirect	Mycodirect	Mycodirect
Результаты ДНК		Положительный идентификатор	Положительный идентификатор	Положительный идентификатор
Дата сбора	Плодовое тело	22.01.19	22.01.19	22.01.19
Время (д)		8	8	8
Лоток м²		0,022	0,022	0,022
Исходный pH		6	6	6
Конечный pH		4,89	5,47	4,44
Выход (г/м²)		156,7	90,67	149
Плотность (г/см³)		0,0156	0,0121	0,011
Прочность на растяжение (г/см²)		1960,03	242,91	1243,06
Среда		Солод 001	Глицерин 002	Солод 003
ммоль/л		33,1	13,6	145,1
Осмоляльность (мОсм)		169	505	287
Отношение C:N		19	30	7,5

Белок	13,37%	35,71%	32,21%	46,24%
--------------	--------	--------	--------	--------

Зольность	6,54%	3,61%	3,99%	3,47%
Углеводы	78,44%	51,16%	48,16%	37,57%
Жир от АН	В ожидании	9,52%	15,60%	2,20%
Всего жиров в виде триглицеридов	1,65%			
Всего насыщенных жирных кислот	0,36%			

Таблица 11: Данные о питательной ценности *Morchella esculenta*

Название вида	<i>Morchella esculenta</i>	<i>Morchella esculenta</i>	<i>Morchella esculenta</i>
Распространенное имя	Сморчок съедобный	Сморчок съедобный	Сморчок съедобный
Штамм и источник	Amazon	Mycodirect	Mycodirect
Результаты ДНК		Положительный идентификатор	Положительный идентификатор
Дата сбора урожая	Плодовое тело	28.12.18	02.05.18
Время (д)		10	14
Лоток м²		0,022	0,075
Исходный pH		6	6
Конечный pH		5,7	4,8
Выход (г/м²)		243,85	218,85
Плотность (г/см³)		0,083	0,0331
Прочность на растяжение (г/см²)			387,04
Среда		Солод 001	Солод 001
ммоль/л		33,1	33,1

Осмоляльность (мОсм)		169	169
Отношение C:N		19	19

Белок	30,37%	16,62%	26,29%
Зольность	6,98%	Ниже обнаружения	1,85%
Углеводы	60,90%	Не тестировано	64,47%
Жир от АН	2,78%	Не тестировано	14,07%
Всего жиров в виде триглицеридов	1,76%	Не тестировано	7,68%
Всего жирных кислот	1,67%	Не тестировано	7,05%
Всего насыщенных жирных кислот	0,41%	Не тестировано	1,32%

Таблица 12: Данные о питательной ценности *Calvatia gigantea*

Название вида	<i>Calvatia gigantea</i>	<i>Calvatia gigantea</i>	<i>Calvatia gigantea</i>	<i>Calvatia gigantea</i>
Распространенное имя	Головач гигантский	Головач гигантский	Головач гигантский	Головач гигантский
Штамм и источник	Mycodirect	Mycodirect	Mycodirect	Mycodirect
Результаты ДНК	<i>C. rosae</i>	<i>C. rosae</i>	<i>C. rosae</i>	<i>C. rosae</i>
Дата сбора урожая	09.08.18	20.08.18	23.08.18	23.08.18
Время (д)	5,7	6,2	9	5,8
Лоток м ²	0,022	0,25	0,022	0,25
Начальный рН	6.5	6.5	6.5	6.5
Конечный рН	5,62	6,25	5,07	Не записано
Выход (г/м ²)	71,42	111,1	178,6	108,3
Плотность (г/см ³)	0,07	0,037	0,045	0,11

Прочность на растяжение (г/см²)	314,1	264	135	281,1
СРЕДА	Солод 001	Солод 001	МК7-SF	Солод 003
ммоль/л	33,1	33,1	334	145,1
Осмоляльность (мОсм)	169	169	1387	287
Отношение C:N	19	19	7,5	7,5

Белок	32,03%	34,89%	46,32%	46,90%
Зольность	Не тестировано	3,69%	7,81%	3,66%
Углеводы	Не тестировано	53,16%	Не тестировано	Не тестировано
Жир от АН	Не тестировано	Ниже обнаружения	Не тестировано	Не тестировано
Всего жиров в виде триглицеридов	Не тестировано	8,27%	Не тестировано	Не тестировано
Всего жирных кислот	Не тестировано	7,91%	Не тестировано	Не тестировано
Всего насыщенных жирных кислот	Не тестировано	1,66%	Не тестировано	Не тестировано

Таблица 13: Данные о питательной ценности *Calvatia gigantea*

Название вида	<i>Calvatia gigantea</i>	<i>Calvatia gigantea</i>	<i>Calvatia gigantea</i>	<i>Calvatia gigantea</i>	<i>Calvatia gigantea</i>
Распространенное имя	Головач гигантский	Головач гигантский	Головач гигантский	Головач гигантский	Головач гигантский
Штамм и источник	Outgrow	Outgrow	Outgrow	Outgrow	Outgrow
Результаты ДНК	<i>C. rosae</i>	<i>C. rosae</i>	<i>C. rosae</i>	<i>C. rosae</i>	<i>C. rosae</i>
Дата сбора урожая	11.02.19	11.02.19	11.02.19	11.02.19	11.02.19
Время (д)	6	6	6	6	6
Лоток м²	0,022	0,022	0,022	0,022	0,022

Начальный рН	6	6	6	6	6
Конечный рН	6,25	4,45	2,74	2,87	3,1
Выход (г/м²)	144,76	38,41	197,12	170,66	179,66
Плотность (г/см³)	0,21	0,08	0,2	0,17	0,36
Прочность на растяжение (г/см²)	562,96	1259,26	1559,23	833,33	1040
СРЕДА	МК7-102 5% Глик	МК7-102 5% Глик	МК7-102 5% Глик	МК7-102 5% Глик	МК7-102 5% Глик
Отношение С:N	5	7,5	15	30	40

Белок	45,95%	49,26%	38,15%	20,61%	24,30%
Зольность	4,65%	4,76%	6,20%	3,74%	4,61%
Углеводы	45,77%	38,90%	53,65%	70,19%	66,78%
цис, цис-полиненасыщенные ЖК	2,05%	2,76%	1,00%	1,07%	0,83%
Цис-мононенасыщенные ЖК	0,51%	0,61%	0,35%	1,26%	0,73%
Всего насыщенных жирных кислот	0,93%	1,10%	0,40%	0,92%	0,67%
Всего жиров в виде триглицеридов	3,63%	4,70%	2,00%	3,40%	2,33%
Суммарные изомеры транс-ЖК - ГХ	Ниже обнаружения	Ниже обнаружения	Ниже обнаружения	Ниже обнаружения	Ниже обнаружения

Таблица 14: Данные о питательной ценности *Fusarium venenatum*

Название вида	<i>Fusarium venenatum</i>
Штамм и источник	АТСС
Результаты ДНК	Положительный идентификатор
Токсичность Romer Labs	Пройдено
Дата сбора урожая	16.01.19
Время (д)	5
Лоток м²	0,25
Начальный рН	4,5
Выход (г/м²)	66
Плотность (г/см³)	0,85
Прочность на растяжение (г/см²)	866,2
СРЕДА	МК7-102 10% глицерин
Отношение С:N	7,5

Белок	41,56%
Зольность	6,14%
Углеводы	44,89%
Всего жиров в виде триглицеридов	7,43%
Всего жирных кислот	Ниже обнаружения
Всего насыщенных жирных кислот	2,29%

Таблица 15: Данные о питательной ценности *Fusarium Venenatum*

Название вида	<i>Fusarium Venenatum</i>	<i>Fusarium Venenatum</i>	<i>Fusarium Venenatum</i>	<i>Fusarium Venenatum</i>	<i>Fusarium Venenatum</i>
Распространенное имя					
Штамм и источник	АТСС	АТСС	АТСС	АТСС	АТСС
Результаты ДНК	Положительный идентификатор	Положительный идентификатор	Положительный идентификатор	Положительный идентификатор	<i>C. rosae</i>
Дата сбора урожая	11.02.19	11.02.19	11.02.19	11.02.19	11.02.19
Время (д)	6	6	6	6	6
Лоток м ²	0,022	0,022	0,022	0,022	0,022
Начальный рН	4,5	4,5	4,5	4,5	4,5
Конечный рН	6,15	4,81	3,49	3,29	2,97
Выход (г/м ²)	71,43	89,06	63,81	76,03	215,95
Плотность (г/см ³)	0,14	0,09	0,16	0,06	0,43
Прочность на растяжение (г/см ²)	186,67	166,67	800	370,37	3151,52
СРЕДА	МК7-102 5% глицерин	МК7-102 5% глицерин	МК7-102 5% глицерин	МК7-102 5% глицерин	МК7-102 5% глицерин
Отношение С:N	5	7,5	15	30	40
Белок	44,11%	43,14%	45,25%	48,11%	28,13%
Зольность	5,00%	5,20%	4,43%	5,22%	5,31%
Углеводы	44,95%	44,77%	42,70%	42,25%	64,16%

цис, цис-поли ненасыщенные ЖК	2,36%	2,23%	2,80%	3,04%	1,05%
Цис-мононенасыщенные ЖК	1,26%	0,48%	0,80%	0,68%	0,57%
Всего насыщенных жирных кислот	2,05%	1,00%	1,42%	1,28%	0,67%
Всего жиров в виде триглицеридов	5,95%	3,89%	5,26%	5,24%	2,39%
Суммарные изомеры транс-ЖК - ГХ	Ниже обнаружения	Ниже обнаружения	Ниже обнаружения	Ниже обнаружения	Ниже обнаружения

Таблица 16: Данные о питательной ценности от штамма *Fusarium* МК7

Название вида	<i>Fusarium</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Fusarium</i>	<i>Fusarium</i>
Распространенное имя	МК-7	МК-7	МК-7	МК-7	МК-7
Штамм и источник	МК-7 Stock Culture	МК-7 Stock Culture	МК-7 Stock Culture	МК-7 Stock Culture	МК-7 Stock Culture
Результаты ДНК	Положительный идентификатор	Положительный идентификатор	Положительный идентификатор	Положительный идентификатор	Положительный идентификатор
Дата сбора урожая	11.02.19	11.02.19	11.02.19	11.02.19	11.02.19
Время (д)	6	6	6	6	6
Лоток м²	0,022	0,022	0,022	0,022	0,022
Начальный рН	3,3	3,3	3,3	3,3	3,3
Конечный рН	6,2	7,2	4,91	2,36	3,3
Выход (г/м²)	483,33	314,62	92,31	103,64	156,09

Плотность (г/см³)	0,48	0,31	0,07	0,1	0,05
Прочность на растяжение (г/см²)	333,33	1454,55	191,11	426,67	312,12
СРЕДА	МК7-102 5% глицерин	МК7-102 5% глицерин	МК7-102 5% глицерин	МК7-102 5% глицерин	МК7-102 5% глицерин
Отношение С:N	5	7,5	15	30	40

Белок	53,09%	38,71%	46,67%	35,31%	40,74%
Зольность	8,92%	7,67%	8,20%	10,00%	10,66%
Углеводы	33,52%	50,74%	41,60%	51,98%	44,95%
цис, цис-поли ненасыщенные ЖК	2,59%	1,60%	2,13%	1,23%	2,14%
Цис-мононенасыщенные ЖК	0,58%	0,43%	0,40%	0,12%	0,44%
Всего насыщенных жирных кислот	0,94%	0,74%	0,80%	0,68%	0,89%
Всего жиров в виде триглицеридов	4,24%	2,89%	3,53%	2,35%	3,63%
Суммарные изомеры транс-ЖК - ГХ	Ниже обнаружения	Ниже обнаружения	Ниже обнаружения	Ниже обнаружения	Ниже обнаружения

Таблица 17: Данные о питательной ценности от *Lenitmula edodes*

Название вида	<i>Lenitmula edodes</i>
Распространенное имя	Гриб шиитакэ
Штамм и источник	Safeway
Дата сбора урожая	Плодовое тело

Протеин	15,73%
Зольность	0,56%
Углеводы	76,24%
Жир от АН	5,80%
Всего жиров в виде триглицеридов	1,68%
Всего жирных кислот	2,06%
Всего насыщенных жирных кислот	0,46%

Таблица 18: Данные о питательной ценности *Agaricus bisporus*

Название вида	<i>Agaricus bisporus</i>
Распространенное имя	Шампиньон двуспоровый
Штамм и источник	Safeway
Дата сбора урожая	Плодовое тело

Белок	15,72%
Зольность	5,57%
Углеводы	77,02%
Жир от АН	5,80%
Всего жиров в виде триглицеридов	1,68%
Всего жирных кислот	Ниже обнаружения
Всего насыщенных жирных кислот	0,46%

Пример 22: Данные по содержанию белка из биоматов штамма МК7, выращенных на двух различных средах.

Биоматы сушат в печи в течение нескольких дней (при 99°C) и оставляют в сушилке на несколько дней. Образцы измельчают и готовят для анализа общего азота. По оценкам, примерно 5% H₂O находится в высушенных образцах штамма МК7.

Общий белок рассчитывают следующим образом:

Для штамма МК7, выращенного на мембране, на среде МК102-41,2%.

Для штамма МК7, выращенного на мембране на среде АУМ - 43,8%.

Характеристики сред (особенно подходящих для мембранных реакторов)

Среда	Ионная сила (ммоль/л)	Осмоляльность (мОсм)	Источник углерода (% масс.)	Выход* (г/м ²)
AUM	308,5	1902	Глицерин, 10%	359
МК7-102	296	1804	Глицерин, 10%	507
Лигноцеллюлоз а	1401,6	2723	ЛСВ**, 10%	247,4

*Лучший выход, биомат штамма МК7 на мембране, 8,5 мл среды, 35 мм чашки Петри, 5-7 дней

**Лигноцеллюлозная биомасса - получена из сухого сена, обработанного серной кислотой.

Химия среды для выращивания

AUM - среда искусственная моча	
	г/л
CaCl ₂ * 2H ₂ O	0,37
MgSO ₄ * 7H ₂ O	0,49
NaCl	5,2
Na ₂ SO ₄	1,41
Цитрат тринатрия	0,61
Li-лактат	0,1
КН ₂ РО ₄	0,95
К ₂ НРО ₄	1,2
НН ₄ Сl	1,3
мочевина	10
креатинин	0,8
дрожжевой экстракт (для учета микроэлементов и нуклеиновых кислот)	0,005
пептон, бактериологический (для учета аминокислот)	1
FeSO ₄ * 7H ₂ O	0,0012
Na ₂ CO ₃	2,1
H ₂ O	до 1л
HCl для корректировки pH	3,5
Среда из лигноцеллюлозной биомассы	
	г/л
Измельченное сено	100

NH ₄ NO ₃	10,5
Мочевина	3,5
CaCl ₂	1
MgSO ₄ * 7H ₂ O	1
KH ₂ PO ₄	4
Следы без ЭДТА	0,4
Экстракт дрожжей	2
H ₂ O до 1 л	
H ₂ SO ₄ для регулировки pH	
МК7-102	
	г/л
NH ₄ NO ₃	10,5
Мочевина	3,5
CaCl ₂	1
MgSO ₄ * 7H ₂ O	1
KH ₂ PO ₄	4
Следы без ЭДТА	0,4
Глицерин	10
Экстракт дрожжей	2
H ₂ O до 1 л	
HCl для регулировки pH	

Пример 23: В этом примере показаны сравнительные данные о питательной ценности двух нитевидных грибов *Fusarium* - штамма МК7 и *Fusarium venenatum*.

Сравнительные данные о питательной ценности, полученные для штамма МК7 и *Fusarium venenatum*.

Общий анализ белка

Единицы	Аналит	МК7 QCB252	F.V. слой, полученный SB янв. 2019	Кворн (F.V.)*
Процент сухой массы	Общий белок	43-52%	42%	44,0%
	Всего жиров	12,0%	7,4%	12,00%
	Всего клетчатки	23,3%	25,1%	24,0%
	Всего сахаров	<0,35%	0,0%	0,00%
	Всего золы	12,4%	6,1%	

	Всего углеводов (рассчитано)	35,4%	45,0%	36,0%
	Всего нуклеотидов	1,47%		

* Продукт содержит белок из не грибных источников (яйца, яичные белки, дрожжи, пшеничный глютен)

Расширенный аминокислотный анализ

Единицы	Аналит	МК7 QCB25 2	F.V. слой, полученный SB янв. 2019	Кворн (F.V.)	Микопротейн F.V. (из приложения GRAS)	F.V. для рыбных продуктов (см. ссылку.)	Яйцо целое
Процент от общего сухого веса белка	Триптофан*	1,07%	1,52%	1,24%	1,6%	0,94%	1,60%
	Цистин	0,82%	0,97%		0,8%		2,21%
	Метионин*	1,54%	1,66%	1,59%	2,1%	1,51%	3,08%
	Аланин	10,43%	5,94%		6,0%		5,58%
	Аргинин	5,67%	5,94%		7,3%	4,72%	6,33%
	Аспарагиновая кислота	10,30%	10,77%		10,3%		10,35%
	Глутамин	11,56%	11,46%		12,5%		13,17%
	Глицин	5,58%	5,25%		4,3%		3,35%
	Гистидин*	2,11%	2,90%	2,69%	3,5%		2,48%
	Изолейцин*	5,42%	4,56%	3,93%	5,2%	3,96%	5,02%
	Лейцин*	8,25%	7,04%	6,55%	8,6%	5,85%	8,56%

	Фенилалани н*	2,52%	4,01%	3,72%	4,9%		5,22%
	Пролин	4,91%	5,52%		4,5%		3,78%
	Серин	4,98%	4,97%		5,1%		7,78%
	Треонин*	5,99%	4,97%	4,21%	5,5%	3,77%	4,39%
	Общий лизин*	7,12%	8,98%	6,28%	8,3%	5,66%	6,88%
	Тирозин	2,33%	3,73%		4,0%		4,08%
	Валин*	9,39%	9,81%	4,14%	6,2%	4,72%	6,17%
	Всего незаменимы х АК	43,42%	45,44%	34,34%	45,9%		43,4%
	Разветвленн ая цепь	23,06%	21,41%	14,62%	20,0%		19,8%

Витамины

Единицы	Аналит	МК7 QCB252	Ф.В. слой, полученный СВ января 2019	Кворн (F.V.)
МЕ/100 г сырого	Витамин А	7,53	44	
мг/100 г сырого	Фолиевая кислота	0,15		
мг/100 г сырого	В3 ниацин	2,06		0,35
мкг/100г сырого	В12	1,82		
мг/100 г сырого	В2	0,89		0,23
мг/100 г сырого	В5	0,33		0,25
мг/100 г сырого	В1	0,01		0,01
МЕ/100 г сырого	D2	222		

мг/100 г сырого	Омега-3 линоленовая	148		400
мг/100 г сырого	Кальций	229	1170	42,5
мг/100 г сырого	Железо	3,88	2,8	0,5

Анализ жирных кислот

Единицы	Жирная кислота	Ф.В. слой янв. 2019	МК7
процент от общих триглицеридов	Каприновая кислота (C10:0)	0,00%	
	Миристиновая кислота (C14:0)	0,00%	1,91%
	Пентадекановая кислота (C15:0)	0,00%	
	Пальмитиновая кислота (C16:0)	17,32%	26,75%
	Пальмитолеиновая кислота (C16:1)	0,00%	
	Маргариновая кислота (C17:0)	0,00%	
	Стеариновая кислота (C18:0)	11,02%	7,64%
	Олеиновая кислота (C18:1 z-9)	19,69%	21,66%
	Линолевая кислота (C18:2 (z-9,12))	44,88%	32,48%
	Гамма линоленовая кислота	0,00%	
	Альфа линоленовая кислота	0,00%	3,82%
	Арахидиновая кислота (C20:0)	0,00%	
	11-Эйкозеновая кислота C20:1 (z-11)	0,00%	
	Бегеновая кислота (C22:0)	0,00%	
	Лигноцериновая кислота (C24:0)	0,00%	
	Другие >C20	0,00%	
	Другие <C20	0,00%	2,55%
	Насыщенные	32,80%	41,40%
	Мононенасыщенные	20,00%	22,29%
	Полиненасыщенные	47,20%	36,31%

Пример 24. Измерение содержания РНК из различных нитевидных грибов.

Экспериментальная методика анализа пурина: получение 1000 мкг/мл пуриновых

стандартов: 100 мг каждого пуринового основания (аденин, гуанин, ксантин и гипоксантин) добавляют по отдельности в 4 мерные колбы по 100 мл. В каждую колбу добавляют 90 мл ультраочищенной воды, и колбы встряхивают для отделения пуриновых твердых веществ. По каплям добавляют 10 М NaOH, приготовленный в ультраочищенной воде, до тех пор, пока пуриновое основание не начнет растворяться. Колбы неоднократно встряхивают до полного растворения всех твердых веществ. При необходимости добавляют дополнительное основание для обеспечения полного растворения. Колбы закрывают крышками и хранят в холодильнике.

Приготовление 200 мкг/мл смешанного пуринового стандарта: 20 мл каждого пуринового стандарта с концентрацией 1000 мкг/мл добавляют в мерную колбу на 100 мл, объем доводят до 100 мл добавлением воды. Хранят в холодильнике

Приготовление 150 мМ фосфатного буфера с рН 2,5-2,8: 150 ммоль буферного раствора с фосфатом натрия получают растворением 74,88 г NaH_2PO_4 в 2 литрах ультраочищенной воды. Раствор фильтруют через фильтр с размером пор 0,45 мкм в вакууме. 7,88 мл 80% фосфорной кислоты добавляют к 2 литрам ультраочищенной воды, и полученные растворы объединяют. Если рН выходит за пределы диапазона буфера 2,5-2,8, рН корректируют, добавляя по каплям 80% фосфорную кислоту до конечной точки рН 2,6.

Получение образцов: лиофилизированные образцы грибов обрабатывают в том виде, в каком они были получены. Влажные образцы переносят в тарированные 15 мл пробирки Falcon. Затем образцы замораживают при -80°F для подготовки к лиофилизации. Предварительно замороженные образцы лиофилизируют в течение 24-48 часов на лиофилизаторе Labconco досуха.

Высушенные образцы взвешивают и записывают вес. Высушенный материал растирают в ступке пестиком до мелкого порошка и взвешивают в 50 мл колбе Эрленмейера с получением образца примерно 500 мг. В реакционную колбу добавляли 15 мл 70% хлорной кислоты. Затем реакционные смеси нагревают до 95°C на водяной бане в течение 1 часа при перемешивании магнитной мешалкой. Колбы вынимают из водяной бани, из каждой реакции отбирают образец объемом 5 мл и переносят в 15 мл пробирку Falcon. рН увеличивают добавлением по каплям 10 М раствора КОН до тех пор, пока раствор не достигал рН 4. Объем нейтрализованного образца записывают, и раствор центрифугируют при 4000 об/мин в течение 30 минут. рН проверяют после центрифугирования и, при необходимости, регулируют, конечный объем записывают. С помощью шприца набирают 3 мл супернатанта и фильтруют через 0,45 мкм шприцевой фильтр для проведения анализа ВЭЖХ.

Условия ВЭЖХ:

ВЭЖХ: модуль разделения Waters e2695

Колонка: Shodex Asahipak GS-320HQ 7,5 мм x 300 мм

Растворитель: 150 мМ натрий-фосфатный буфер (рН 2,5-2,8).

Объем впрыска: 10 мкл

Скорость потока: 0,6 мл/мин
 Температура колонки: 35°C
 Длина волны обнаружения: 260 нм
 СОДЕРЖАНИЕ РНК

Вид	РНК % масс. в сухом биомате
<i>Hericium erinaceus</i> (ежовик гребенчатый)	0,76-2,23
<i>Sparassis crispa</i> (спарассис кудрявый)	1,56
<i>Pleurotus ostreatus</i> (вешенка обыкновенная)	0,95
<i>Morchella esculenta</i>	0,51
<i>Morchella conica</i>	0,14
<i>Fusarium venenatum</i>	3,52-4,86
Штамм МК7	1,3-1,95

Пример 25. Данные токсичности из биоматов нитевидных грибов *Fusarium venenatum* и *Morchella conica* (черные сморчки).

Исследования токсичности/роста с *Daphnia Magna*

Биомат *Fusarium venenatum* не дает к острой токсичности по отношению к *Daphnia Magna*, высокочувствительному макробеспозвоночному, обычно используемому в анализах токсичности (публикации EPA, 1987; Guilhermino *et al.*, 2000).

Живую *D. magna* покупают у Carolina Biological Supply (Cat # 142330, Burlington, NC). Сразу после получения культур от поставщика, 100 мл жидкой среды, содержащей живые *D. magna*, смешивают с 800 мл Arrowhead Spring Water (Nestle Waters North America, Inc. Stamford, CT) в продезинфицированной стеклянной чаше (промытой 70% изопропанолом и высушенной). Культуру осторожно перемешивают продезинфицированной пластиковой ложкой, и 400 мл этой жидкости, без каких-либо *Daphnia*, удаляют и хранят в бутылке с Arrowhead Spring water при 4°C для последующего использования. Четверть гранулы корма для *Daphnia* (Carolina Biological Supply, Cat # 14-2316) добавляют к оставшимся 500 мл жидкости в чаше, содержащей *Daphnia*. Чашу покрывают свободно облегающей пластиковой пленкой, и культуру инкубируют при комнатной температуре ($21 \pm 2^\circ\text{C}$), как указано в руководстве, предоставляемом поставщиком. Через 48 часов роста и наблюдения, живые *Daphnia* используют для экспериментов по росту/токсичности.

Стерильные чашки Петри (Fisherbrand 100×15 мм, Cat# 08-757-13, Thermo-Fisher) заполняют 35 мл жидкой среды для выращивания (смесь родниковой воды/среды Carolina Biological Supply), которую хранят при 4°C (описано выше). Жидкую среду уравнивают до комнатной температуры. Четыре активных *Daphnia*, каждая примерно 1-1,2 мм в длину, ловят пипеткой (Carolina Biological Supply, способ отлова описан в руководстве поставщика) и добавляют в каждую из восьми чашек Петри. Кроме того, в четыре из чашек Петри добавляют 0,15 г влажного биомата *F. venenatum* (18% твердых

веществ) и в четыре чашки Петри добавляют 0,03 г сухого корма для *Daphnia*. Биомассу, полученную через 5 дней роста на среде МК7-102, собирают с лотка, осторожно выжимают вручную для удаления избытка среды и обрабатывают паром в течение 30 минут для уничтожения клеток. Пропаренную биомассу прессуют в виноградном прессе Francesco Palumbo для удаления жидкости до достижения содержания влаги примерно 18% твердых веществ (82% жидкости). В ходе экспериментов по токсичности рН в чашках Петри, содержащих как контрольную, так и *F. venenatum* биомассу, составляет в диапазоне от 7,4 до 7,8. Живые *Daphnia* подсчитывают каждые 24 часа в каждой из чашек Петри, как показано в следующей таблице.

Через четыре дня контрольная обработка содержит в среднем 3,50 живых *Daphnia* на чашку (стандартное отклонение=1,29), в то время как *F. venenatum* обработка содержит в среднем 3,75 живых *Daphnia* на чашку (стандартное отклонение=0,50). В это время контрольная обработка имеет в среднем 0,75 смертей на чашку (стандартное отклонение=0,96), в то время как *F. venenatum* обработка имеет в среднем 0,25 смертей на чашку (стандартное отклонение=0,5).

Таким образом, эти данные показывают, что пропаренная биомасса *F. venenatum* не показывает острую токсичность по отношению к *Daphnia*, по оценке описанными способами.

Исследование токсичности *Daphnia* на *Fusarium Venenatum*

Взрослые <i>Daphnia</i> ~3 мм длины, температура 20,0 ± 0,5							
F. Venenatum	t=0	день=1	день=2	Начальны й рН	Конечны й рН		
#1	4	3	3	7,38	7,42		
#2	4	4	3				
#3	4	3	2				
#4	4	3	3				
		средне е	2,75				
		Ст. откл.	0,50				
Контроль	t=0	t=1	t=2	Начальны й рН	Конечны й рН		
#1	4	4	4	7,4	7,63		
#2	4	2	1				

#3	4	3	3				
#4	4	4	3				
		средне	2,75				
		Ст. откл.	1,26				
Незрелые Daphnia длиной ~1 мм, температура 19,2 ± 0,5							
F. venenatum незрелый	t=0	день=1	день=2	день=3	день=4	Начальный рН	Конечный рН
#1	4	4	4	4	4	7,47	7,58
#2	4	4	4	4	4		
#3	4	4	4	4	4		
#4	4	4	4	4	3		
				среднее	3,75		
				Ст. откл.	0,50		
Контрольные детеныши							
Контроль	t=0	t=1	t=2	t=3	t=4	Начальный рН	Конечный рН
#1	4	4	5	5	5	7,38	7,75
#2	4	4	4	4	4		
#3	4	3	3	3	3		
#4	4	2	2	2	2		
				среднее	3,50		
				Ст. откл.	1,29		

Содержание микотоксина

Способ эталонного US- Multitoxin LCMSMS 45-2-LWI

	Fusarium venenatum 1 (биомат неизмельченный, охлажденный)	Черный сморчок (биомат неизмельченный, замороженный)
Альфа-токсин В1	<1,3 ч./млрд.	<1,3 ч./млрд.
Альфа-токсин В2	<1,2 ч./млрд.	<1,2 ч./млрд.

Альфатоксин G1	<1,1 ч./млрд.	<1,1 ч./млрд.
Альфатоксин G2	<1,6 ч./млрд.	<1,6 ч./млрд.
Фумонизин В1	<0,1 ч./млн.	<0,1 ч./млн.
Фумонизин В2	<0,1 ч./млн.	<0,1 ч./млн.
Фумонизин В3	<0,1 ч./млн.	<0,1 ч./млн.
Охратоксин А	<1,1 ч./млрд.	<1,1 ч./млрд.
Дезоксиниваленол	<0,6 ч./млн.	<0,6 ч./млн.
Ацетилдеоксинивален ол	<0,8 ч./млн.	<0,8 ч./млн.
Фузаренон Х	<0,4 ч./млн.	<0,4 ч./млн.
Ниваленол	<0,6 ч./млн.	<0,6 ч./млн.
Т-2 токсин	<0,2 ч./млн.	<0,2 ч./млн.
НТ-2 токсин	<0,2 ч./млн.	<0,2 ч./млн.
Неосоланиол	<0,4 ч./млн.	<0,4 ч./млн.
Диацетоксисцирпенол	<0,4 ч./млн.	<0,4 ч./млн.
зеараленон	<51,7 ч./млрд.	<51,7 ч./млрд.

Пример 26. Характеризация жидкой дисперсии, содержащей частицы биомата штамма МК7 ВІОМАТ.

Материалы: Образец веганского молока МК7: приблизительно 8,25% твердого вещества в воде

Все измерения проводят при комнатной температуре (25°C), если не указано иное.

Внешний вид и цвет: Внешний вид слегка беловатый с легкими бежевыми тонами. Запах слегка древесный.

Анализ показателя преломления, плотности и размера частиц в образцах, разбавленных 10-1000х, показан на фигуре 20.

Динамическое светорассеяние (DLS) применяют для анализа размера частиц в растворе.

Структура молока под оптическим микроскопом проиллюстрирована на фигурах 21А (10х) и 21В (100х).

Содержание жира в образце (8,25%) составило 0,6 г/100 г.

Содержание рН было таким, как показано ниже.

Концентрация	0,0825%	0,825%	4,125%	8,25%
рН	6,73	6,17	5,99	5,91

Вязкость: Изучают вязкость образца веганского молока при исходной концентрации (8,25%). Фигуру 22 получают путем усреднения трех повторяющихся измерений. Вязкость образца уменьшается с увеличением скорости сдвига, что указывает на то, что это не ньютоновская жидкость, имеющая свойства разжижения при сдвиге. Это

также означает, что частицы намного легче деформировать при большой скорости сдвига. Для заданной скорости сдвига вязкость образца можно определить по степенному уравнению. Это дает возможность сравнить этот образец веганского молока с другим коровьим молоком или смузи.

Никакого видимого расслоения молока не наблюдают через 2 или 4 недели.

Пример 27. Способ получения жидкой дисперсии с использованием штамма МК7 нитевидных грибов.

В высокоскоростном блендере (Vitamix) 200 граммов штамма МК7, 600 граммов воды и 1 чайную ложку ванильного экстракта объединяют и перемешивают до получения однородной массы (по меньшей мере, 90 секунд). Перемешанную смесь нагревают на слабом огне до тех пор, пока запах грибов не уменьшился, предпочтительно до момента его отсутствия (примерно 20-30 минут). Температуру поддерживают на низком уровне для достижения максимально медленной скорости закипания, которое начинается, когда молоко МК7 достигает приблизительно 80°C. Молоко МК7 слегка кипятят при температуре от 90 до 92°C, и дают возможность кипеть без перерыва без перемешивания или взбивания. Нагретую перемешанную смеси охлаждают и используют.

После завершения цикла нагревания и удаления молока из кастрюли, на внутренней стороне сосуда на пересечении молока МК7 и воздуха наблюдают остаточную линию. Остаток является твердым и хорошо прикрепленным слиянием обезвоженного/приготовленного штамма МК7.

Пример 28: Блины

Состав:

- Универсальная мука King Arthur - 11,7% глютена.
- Сахарный песок C&H.
- Биомасса штамма МК7 - QCB-249-10% Глицерин- 03.09.2018.
- Молоко МК7- QCB-249-10% Глицерин- 03/09/2018 (25% биомассы перед приготовлением)
- Ванильная паста Nielsen.
- Несоленое масло Plugra 82% жирности.

Оборудование:

- Тефлоновая сковорода для блинов De Buyer.

Блины МК7 1

Универсальная мука	120 г
Морская соль	0,5 г
Сахарный песок	50 г
Свежие цельные яйца	100 г
Свежие яичные желтки	30 г
Молоко МК7	250 г
Ванильная паста	5 г

Несоленое сливочное масло	30 г
Топленое масло	По мере необходимости
Сахарная пудра турбинадо	По мере необходимости
Всего	585,5 г

Первоначальное содержание свежего молока в блинном тесте заменяют молоком МК7. Молоко получают следующим образом: штамм МК7 200 г, вода 600 г, ваниль 2 г. Размер смеси уменьшают в vitamix и подвергают термообработке без обработки азотом в течение 20 минут при низкой температуре кипения. Блинное тесто получается слишком густым.

Блины МК7 2

Универсальная мука	120 г
Морская соль	0,5 г
Сахарный песок	50 г
Свежие цельные яйца	150 г
Свежие яичные желтки	30 г
Молоко МК7	250 г
Свежее цельное молоко	100 г
Вода	50 г
Ванильная паста	5 г
Несоленое сливочное масло	30 г
Топленое масло	По мере необходимости
Сахарная пудра турбинадо	По мере необходимости
Всего	785,5

Для корректировки густоты жидкого теста используют комбинацию жидкостей (цельные яйца, свежее молоко и вода). Эта корректировка дает соответствующую текстуру и вкус. Сахар можно не добавлять для соленых блинов и соленых вкусовых добавок, таких как порошки лука и чеснока, а также травы.

Блины МК7 3

Универсальная мука	80 г
Мука МК7	40 г
Морская соль	0,5 г
Сахарный песок	50 г
Свежие цельные яйца	150 г
Свежие яичные желтки	30 г
Молоко МК7	250 г

Свежее цельное молоко	100 г
Вода	50 г
Ванильная паста	5 г
Несоленое сливочное масло	30 г
Топленое масло	По мере необходимости
Сахарная пудра Турбинадо	По мере необходимости
Всего	785,5

Часть муки заменяют мукой МК7 для увеличения количества белков. Было замечено, что тесто для блинов из муки МК7 требует большего количества жидкости, поскольку штамм МК7 обладает 150% гидратационной способностью (стандарты муки составляют от 60 до 70%). Текстура блинов была больше похожа на лепешку без добавления воды.

Пример 29: Тесто для макаронных изделий

Ингредиенты:

- Биомасса штамма МК7 - QCB-249-10% Глицерин-03/09/2018
- Мука МК7- QCB-249-10% Глицерин-03/09/2018
- Манная крупа Bob's Red Mill.
- Мука Delallo 100% Organic Double 00.
- Бутилированная вода- PH: 6,5.

Оборудование:

Кухонный комбайн KitchenAid и ролик для макаронных изделий.

1. Тесто для макарон, приготовленное из манной крупы, муки МК7 и воды.

Ингредиенты	Вес
Манная крупа	100 грамм
Мука МК7	50 грамм
Холодная вода	100 г (66,66% гидратации)
Морская соль	4 грамма
Всего	254 грамма

Тесто замешивают вручную, и вкус штамма МК7 не обнаруживают. Мука МК7 увеличивает потребность в гидратации жидкости с 50% в обычном тесте для макарон до прикл. 66,66% для теста, приготовленного из 2/3 манной крупы и 1/3 муки МК7.

2. Тесто для макарон из манной крупы, муки МК7 и яиц.

Ингредиенты	Вес
Манная крупа	100 грамм
Мука МК7	50 грамм
Холодные цельные яйца	100 г (66,66% гидратации)

Морская соль	5 грамм
Всего	255 грамм

Тесто замешивают вручную. Вкуса штамма МК7 не обнаруживают. Тесто на яичной основе имеет более насыщенный вкус. Текстура аналогична опыту № 1, но с немногим меньшей выработкой глютена, благодаря жиру в яйцах (1/3 жира в желтках, то есть примерно 13% от общей массы опыта № 2). Тесто на яичной основе труднее замешивать вручную из-за того, что жир мешает глютену. Кухонный комбайн можно использовать для получения более гладкой текстуры, похожей на опыт № 1. Увеличение содержания соли в тесте для макарон на 20% дает хорошие результаты.

3. Увлажнение муки МК7

Ингредиенты	Вес
Мука МК7	50 грамм
Холодная вода	75 г (150% гидратации)
Всего	125 грамм

Тесто замешивают вручную. Штамм МК7 требует примерно 150% от воды для гидратации, так же как и сравнительное тесто из стандартной муки и крахмала. Для справки: для белой пшеничной муки требуется от 60 до 70% гидратации, и для крахмалов - от 70 до 90%.

4. Тесто для макарон, приготовленное из муки double 00, муки МК7 и воды для сравнения с опытом № 1.

Ингредиенты	Вес
Мука Double 00	100 грамм
Мука МК7	50 грамм
Холодная вода	100 г (66,66% гидратации)
Морская соль	5 грамм
Всего	255 грамм

Тесто замешивают вручную. Вкус штамма МК7 не обнаружен. Текстура более гладкая, чем в опыте № 1 с мукой double 00, что подтвердило эффективность муки МК7, имеющей гораздо более мелкий помол.

5. Тесто для макарон, приготовленное из муки double 00, муки МК7 и яиц для сравнения с опытом №2.

Ингредиенты	Вес
Мука Double 00	100 грамм
Мука МК7	50 грамм
Холодные цельные яйца	100 г (66,66% гидратации)
Морская соль	5 грамм

Всего	255 грамм
--------------	------------------

Тесто замешивают в кухонном комбайне. Вкус штамма МК7 не обнаружен. Текстура более гладкая, чем в опыте № 2 при замешивании кухонным комбайном, затем вручную, что подтверждает то, что кухонный комбайн лучше работает с тестом для макаронных изделий на жировой основе.

6. Тесто для макарон, приготовленное из манной крупы, муки double 00, муки МК7 и воды для сравнения с опытами №1 и №4.

Ингредиенты	Вес
Манная крупа	50 грамм
Мука Double 00	50 грамм
Мука МК7	50 грамм
Холодная вода	100 г (66,66% гидратации)
Морская соль	5 грамм
Всего	255 грамм

Тесто замешивают кухонным комбайном и затем вручную. Вкус штамма МК7 не обнаружен. Текстура очень похожа по гладкости на опыт № 4. Комбинация двух видов муки с мукой МК7 приводит к уменьшению текстуры, подобной манной крупе, и к уменьшению текстуры пшеничной муки.

7. Тесто для макарон, приготовленное из манной крупы, муки double 00, муки МК7 и яиц для сравнения с опытами №2 и №5.

Ингредиенты	Вес
Манная крупа	50 грамм
Мука Double 00	50 грамм
Мука МК7	50 грамм
Холодные цельные яйца	100 г (66,66% гидратации)
Морская соль	5 грамм
Общий	255 грамм

Тесто замешивают кухонным комбайном и затем вручную. Вкус штамма МК7 не обнаружен. Текстура гладкая, такая как в опыте № 5, и такая же, как и выше, для сочетания двух видов муки с мукой МК7.

Пример 30: Шпецле

Ингредиенты:

- Биомасса МК7 - QCB-249-10% глицерин- 03/09/2018
- Мука МК7.
- Универсальная мука King Arthur 11,7% глютена

Оборудование:

- Нет

Опыт №1:

Ингредиенты	Вес
Универсальная мука	200 грамм
Мука МК7	100 грамм
Целые яйца	200 грамм (66,66% гидратации)
Газированная вода	160 грамм
Морская соль	8 грамм
Всего	668 грамм

Тесто смешивают вручную и распределяют скребком для теста. Вкус штамма МК7 не обнаружен. Было решено, что шпецле может быть более влажным внутри, и к нему будет полезно добавить сливки или аналог, *например*, жирные сливки, крем-фреш, сметану, пахту, йогурт, а также добавить мускатный орех. Тесто сушат в течение ночи после приготовления и заканчивают обработку на следующий день.

Опыт №2:

Ингредиенты	Вес
Универсальная мука	200 грамм
Мука МК7	100 грамм
Целые яйца	200 грамм (66,66% гидратации)
Газированная вода	160 грамм
Крем-фреш	40 грамм
Морская соль	8 грамм
Порошок мускатного ореха	0,5 г
Всего	708,5 грамм

Тесто замешивают вручную. Вкус штамма МК7 не обнаружен. Оставленный на ночь шпецле имеет надлежащий цвет, как при приготовлении на сливочном масле. Добавление крема дает необходимую влагу. Многочисленные повара French Pastry School одобрили продукт.

Пример 31: Бекон**Ингредиенты:**

- Штамм МК7
- 2 столовые ложки соли
- 1,5 столовые ложки А1
- 1 чайная ложка жидкого дыма
- 2 столовые ложки пищевых дрожжей
- ½ чайной ложки паприки
- 1 чайная ложка меда

Биомат штамма МК7 нарезают на полоски. Готовят маринад/покрытие. Обе

стороны штамма МК7 покрывают покрытием и обжаривают в масле до коричневого цвета, промакивают и обезвоживают в дегидраторе для удаления избыточной влаги до достижения желаемой текстуры. Полученный аналог бекона показал хорошие результаты как по текстуре (т.е. хрустящей), так и по вкусу (имел привлекательный вкус, похожий на бекон). Повара French Pastry School одобрили продукт.

Пример 32: Хлеб

Ингредиенты:

- 0,5 стакана несладких хлопьев из 7 злаков (куплены в магазине)
- 2 стакана кипятка
- 1 пакет сухих дрожжей
- 3 стакана хлебопекарной муки
- 1 стакан муки МК7
- 1 столовая ложка оливкового масла
- 1 столовая ложка темно-коричневого сахара
- 1,5 чайных ложки соли
- 2 чайные ложки кунжута
- 2 чайные ложки семян льна
- 2 чайных ложки мака
- 2 стакана воды

2 стаканами кипятка выливают в хлопья 7 злаков и оставляют на 20 минут для размягчения зерна. В размягченные злаки добавляют дрожжи. Добавляют 1 чашку хлебопекарной муки, масло, сахар и соль и аккуратно перемешивают до получения однородной массы. Муку МК7 смешивают с оставшейся хлебопекарной мукой и медленно вмешивают до образования теста. Накрывают и дают отдохнуть (15-20 минут). Примечание: тесто должно отдыхать в теплом месте. Тесто замешивают до однородности и эластичности. При необходимости добавляют еще муки. Замешивают в течение примерно 10-15 минут. Большую миску смазывают маслом. Тесто покрывают маслом, помещают в смазанную маслом миску и накрывают. Тесту дают подняться в теплой зоне примерно в течение 1,5 часов до его увеличения вдвое. Вмешивают семена и тесто обминают. (Выкладывают тесто на слегка смазанную маслом поверхность. Немного замешивают с примерно ½ семян.) Тесто формируют в буханку. Противень посыпают приблизительно 2 чайными ложками семян. Буханку кладут поверх семян, накрывают полотенцем и оставляют подниматься в теплом месте почти вдвое, примерно 30 минут. Решетку духовки устанавливают в центре духовки, и другую решетку внизу духовки. Духовку предварительно нагревают до 425°F. Буханку обмазывают водой. Оставшейся смесью семян обсыпают буханку. Диагональные разрезы глубиной приблизительно 1/8" делают на поверхности буханки и помещают противень с буханкой в духовку. (2 стакана воды наливают в горячую сковороду на нижней решетке в духовке для образования пара.) Буханку выпекают до золотистого цвета и хрустящей корочки, и тестер, вставленный в центр, выходит чистым примерно через 35 минут. Полученный хлеб имел хороший мякиш

и очень хорошие вкусовые качества. Добавление муки МК7 не было обнаружено в полученном хлебе.

Пример 33: Веганское шоколадное мороженое

Ингредиенты

- 95 г сырых кешью
- 750 г молока МК7
- 0,7 г ксантановой камеди
- 0,2 грамма растворимого эспрессо
- 20 г какао-порошка
- 1 грамм соли
- 2 грамма экстракта ванили
- 110 грамм сахара Турбинадо (растопленного в молоке МК7)
- 150,5 г темного шоколада Green & Blacks 70%
- 20 г сладкого какао-порошка Ghirardelli (шоколад для выпечки)
- 15 граммов кукурузного крахмала Rumford (без ГМО)

1:3 аналог молока МК7: в высокоскоростном блендере (Vitamix) смешивают 200 граммов штамма МК7, 600 граммов воды и 1 чайную ложку ванильного экстракта и перемешивают до получения однородной массы (примерно 90 секунд). Смешанную смесь нагревают на слабом огне в течение 20 минут. (В другой версии рецепта, смешивание и термообработку также проводят в атмосфере азота (*т.е.* барботируя азот через аналог молока МК7 во время либо измельчения в Vitamix, либо цикла нагревания, либо обоих). Применение азота дает увеличение кремообразности аналога молока и получение сладкого вкуса.) Нагревание поддерживают на низком уровне; на максимально медленной скорости бурлящего кипения. Сахар добавляют в молоко МК7 в течение последних 5 минут тепловой обработки и перемешивают до растворения в молоке. (Если молоко МК7 приготовлено заранее, нагрейте молоко и добавьте сахар, чтобы он расплавился.) Сверху видна пена с небольшими частями нижней жидкости, показывая признаки медленного кипения.

В высокоскоростном блендере все ингредиенты объединяют и перемешивают на максимуме в течение 120 секунд. В соответствии со стандартными идеями, рекомендуется оставлять небольшую часть смеси в стороне и растворять крахмал в смеси отдельно, быстро взбивая, чтобы избежать комкования. Если крахмальная смесь готовится отдельно, добавлять ее в основную смесь следует постепенно, чтобы избежать комкования.

Смесь выливают в емкость для приготовления мороженого и покрывают пищевой пленкой, где пищевую пленку прижимают к поверхности смеси, чтобы во время охлаждения смеси не образовывалась корка. Смесь охлаждают, но не замораживают. Смесь взбивают в мороженице в течение, по меньшей мере, 30 минут, но не более часа (в зависимости от желаемой консистенции). Расфасовывают в соответствующий контейнер и замораживают на ночь.

Пример 34: Куриные наггеты

Ингредиенты

- 200 г штамма МК7
- 4 г куриного бульона (может быть куриный бульон на мясной или вегетарианской основе)
- 4 г связующего агента (яичный белок или вегетарианский связующий агент)
- 3 г жира (утиный жир отлично работает, как и масло какао. Также успешно используют другие жиры)

Размер частиц биомата уменьшают с помощью ножа для достижения желаемого размера частиц. Все ингредиенты объединяют и обрабатывают до достижения желаемого гранулометрического состава. (При использовании кухонного комбайна рекомендуется использовать импульсный режим кухонного комбайна в течение 5 секунд и использовать лопатку для удаления биомассы, прилипшей к бокам и возвращать эту биомассу ближе к лезвиям, и повторить это 3 раза. Можно обработать более или менее, как желательно для конечного продукта.) Биомассу уменьшенного размера тщательно перемешивают ложкой/шпателем, чтобы гарантировать тщательное смешивание всех ингредиентов. Формируют котлеты желаемого размера и пропаривают в течение 30 минут для застывания связующего агента. (Учтите, что для некоторых связующих агентов может потребоваться больше или меньше времени.) Пропаренные котлеты охлаждают. В некоторых котлетах применяют панировку и термическую обработку для закрепления панировки на котлетах.

Пример 35: Бургер с колбасой для завтрака**Состав: смесь специй**

- 30 г патоки
- 30 г соевого соуса
- 15 г подсолнечного масла
- 15 г соуса А1
- 21 г молотых семян льна
- 21 г пищевых дрожжей
- 14 г цельнозерновой муки
- 6 г черного перца
- 6 г шалфея
- 1 г тимьяна
- 0,5 г мускатного ореха

Состав: бургер

- 100 г пищевого штамма МК7 (сырье для крахмала)
- 100 г TVP (текстурированный растительный белок: воссозданный из высушенного состояния в половинной смеси овощного и грибного бульона)
- 20 г смеси специй
- 20 г вареного коричневого риса
- 15 г приготовленного лука (желтый лук, приготовленный в масле до размягчения)

- 4 г сушеного яичного альбумина
- 4 г какао-масла
- Необязательно, но рекомендуется: красный пищевой краситель (см. Pic)

В миске для смешивания смесь специй объединяют и перемешивают до получения гомогенной смеси. Ей дают постоять в течение 15 минут, чтобы жидкости достаточно абсорбировались с получением пастообразной смеси. В кухонном комбайне размер частиц биомассы уменьшают до желаемого размера, *т. е.* до размера, соответствующего размеру, ожидаемому от бургера (или колбасы). Ингредиенты для бургера объединяют в миске и перемешивают до однородности. Смоченными руками формируют котлеты для бургеров. Котлеты готовят на пару в течение 30 минут или запекают при температуре 350°F в течение 30 минут и обжаривают.

Пример 36: Хот-дог болонский

Ингредиенты

- 250 г штамма МК7
- 1 г молотой зиры
- 1 г молотого кардамона
- 1 г мациса
- 1,5 г семян черной горчицы
- 1 г молотого кориандра
- 4 г черного перца
- 4 г соли
- 5 г свежего измельченного чеснока
- 6 г сахарного песка
- 4 г паприки
- 50 г очищенного и нарезанного лука
- 18 г растительного масла (примерно 3 столовые ложки)
- 9 г соевого соуса (примерно 2 столовые ложки)
- 30 г миндальной муки
- 140 г пшеничной клейковины
- 2 г аррорута

Все ингредиенты, кроме глютена и аррорута, добавляют в кухонный комбайн. Смесь обрабатывают до полной гомогенности в течение, по меньшей мере, 60 секунд, и обработанную смесь переносят в большую миску лопаткой. Пшеничный глютен и аррорут размешивают деревянной ложкой и превращают в тесто. Необходимо отметить, что при добавлении глютена и аррорута получается плотное тесто. Количество глютена и количество перерабатываемого штамма МК7 могут быть уменьшены по желанию для достижения желаемой плотности.

Тесто помещают на чистую поверхность и делят на 8 равных частей. Подготавливают 8 кусков вощеной бумаги и 8 кусков алюминиевой фольги размера, способного покрыть хот-дог соответствующего размера. Каждую порцию теста

раскатывают по форме, подобной хот-догу, на столе при постоянном давлении руки. Если тесто сухое или имеет трещины, его обрабатывают мокрыми руками, образуя гладкую поверхность. Каждый хот-дог индивидуально заворачивают в вошеную бумагу и снова в алюминиевую фольгу. Концы фольги скручивают в виде конвертика. Хот-доги готовят в пароварке в течение 45 минут. Каждый хот-дог разворачивают и дают остыть.

Пример 37: Сравнение мембран

Конструируют ряд простых биореакторных установок для сравнения влияния мембранного материала на рост биомата. Биоматы выращивают в каждом биореакторе в идентичных условиях (герметично закрытый и влажный, 26°C, гриб инокулирован через питательную среду) и собирают образцы на 6 день. Результаты показаны в таблице 19.

Таблица 19. Сравнение материалов мембран

Материал мембраны 1	Размер пор мембраны 1, мкм	Материал мембраны 2	Размер пор мембраны 2	Гидрофильная или гидрофобная?	Рост вверх, г/м ²	Рост вниз, г/м ²
Нет	н/д	Нет	н/д	н/д	182	
Поливинилиден фторид (PVDF)	5	Нет	н/д	Гидрофильная	354	391
Переработанный PVDF	5	Нет	н/д	Гидрофильная	329	333
Полипропилен (PP)	5	Нет	н/д	Гидрофобная	265	76
Полипропилен (PP)	10	Нет	н/д	Гидрофобная	292	306
Смешанные эфиры целлюлозы (MCE)	0,45	Нет	н/д	Гидрофильная	31	68
Полиамид (нейлон)	0,22	Нет	н/д	Гидрофильная	0	
Полиамид (нейлон)	11	Полиамид (нейлон)	11	Гидрофильная	336	365
Переработанный нейлон	11	Нет	н/д	Гидрофильная		187
ПП (синяя)	5	Нет	н/д	Гидрофильная	165	

мембрана)				ая		
ПП (синяя мембрана)	5	Нейлон	0,2	Гидрофильная	0	
ПП (синяя мембрана)	5	Свободное пространство для газов+нейлон	0,2	Гидрофильная	208	
ПП (синяя мембрана)	5	МСЕ	0,45	Гидрофильная	0	
ПП (синяя мембрана)	5	ПП (синяя мембрана)	5	Гидрофильная	167	
Поливинилиден фторид (PVDF)	5	PVDF	5	Гидрофобная	132	
Парафильм	н/д	Нет	н/д	н/д	0	
Пищевая пленка	н/д	Нет	н/д	н/д	0	
ПП (синяя мембрана)	5	ПП (синяя мембрана)	5	Гидрофильная	0	
ПП (синяя мембрана)	5	ПП	10	Гидрофильная	0	

Как показано в Таблице 19, гидрофильная PVDF мембрана (MilliporeSigma, Burlington, MA) является наиболее эффективным мембранным материалом в представленных условиях, который дает лучшую плотность как растущего вверх (т.е. растущего на верхней стороне мембраны), так и растущего вниз (т. е. растущего на нижней стороне мембраны) биомата при любом протестированном расположении мембраны. Помимо обеспечения наилучших характеристик роста, мембрана является гибкой и остается «чистой», т. е. пригодной для повторного использования после сбора биомата; и последующий эксперимент показал, что ту же мембрану можно использовать

повторно, без стадии очистки, для достижения примерно 80% начальной эффективности. Другой последующий эксперимент продемонстрировал сопоставимые результаты между мембраной из PVDF 5 мкм, показанной в таблице 19, и мембраной из PVDF 0,2 мкм, когда гриб инокулируют на верхней стороне (т.е. напротив исходного материала) мембраны. Полипропиленовые и нейлоновые мембраны также дают стабильно высокий выход, хотя обнаружено, что полипропиленовые мембраны могут забиваться. Нейлоновые мембраны с низкой пористостью не обеспечивают достаточной структурной целостности и имеют тенденцию к растрескиванию в середине эксперимента.

Пример 38: Колба-биореактор «перевернутый вверх дном».

Обращаясь теперь к фигуре 25A, проиллюстрирован «герметичный» (плотно закрытый от окружающей среды) вариант осуществления биореактора в соответствии с конфигурацией, обозначенной «4» на фигуре 23. Как показано на фигуре 25A, биореактор представляет собой «перевернутый вверх дном» биореактор, полученный путем герметизации двух 125 мл колб Эрленмейера на горловине; мембрана (PVDF, размер пор 5 мкм) расположена внутри горловин колб, сырье расположено в верхней колбе, а биомат растет вниз от мембраны в свободное пространство для газа, предусмотренное внутри нижней колбы. И снова на дне нижней колбы можно увидеть конденсат воды. Этот вариант осуществления позволяет непрерывно пополнять запасы сырья и полунепрерывный сбор и/или отбор образцов биомата. Гриб инокулируют в сырье (т. е. над мембраной).

Обращаясь теперь к фигуре 25B, биомат толщиной примерно 1 см собирают как часть второго сбора из биореактора через 12 дней роста (на 20 день после инокуляции, первый сбор проводят на 8 день). Биомат растет со средней скоростью приблизительно 1 мм толщины в день, давая сухой выход биомата вплоть до примерно 100 г/м², по меньшей мере, первые три недели после инокуляции. На фигуре 25C представлены сухой и влажный выходы биореактора через 8 дней (первый сбор) и 12 дополнительных дней (второй сбор). Этот вариант биореактора позволяет производить, по меньшей мере, примерно 0,7 килограмма сухой биомассы на квадратный метр в неделю, что эквивалентно примерно 0,35 килограмма белка на квадратный метр в неделю, используя сырье, полученное из пищевых отходов или отходов жизнедеятельности человека. 0,35 килограмма в неделю приблизительно равны потребности в белке для человека весом 73 килограмма; таким образом, один квадратный метр площади роста мембраны может быть достаточным для удовлетворения потребностей в белке одного взрослого человека, например, в космических полетах с экипажем или в наземных областях применения, в которых доступное пространство ограничено.

После сбора, PVDF-мембрана из этого примера не сохраняет биомассу, видимую невооруженным глазом; как показано на рисунке 25B, мембрана выглядит «чистой». Однако на мембране остается достаточно клеток, чтобы эффективно повторно инокулировать мембрану для продолжения быстрого роста. Другие аналогичные эксперименты показали, что биомат можно выращивать повторно на ранее

использованной мембране без необходимости активной повторной инокуляции мембраны.

Как и в нескольких других примерах, PVDF особенно хорошо проявил себя в качестве мембранного материала в отношении структурной целостности, чистоты, производства биомата и простоты сбора биомата; другие материалы, особенно нейлон, имеют тенденцию выходить из строя, трескаться, засоряться или иным образом ухудшаться по своим характеристикам уже через несколько дней, и поэтому уступают PVDF по своей прочности и пригодности для использования в долгосрочных (например, от 2 до 7 недель) экспериментах.

Пример 39: Пакетный биореактор

Два типа «пакетных биореакторов» проектируют, изготавливают и оценивают на эффективность роста биомата. Первый пакетный биореактор конструируют путем изготовления пакета из материала Gore-Tex, с исходным сырьем, размещенным внутри пакета, и инокулятом нитевидного гриба, размещенным на внешней стороне пакета. Через 7 дней формируется биомат толщиной от примерно 1 мм в верхней части пакета до примерно 6 мм в нижней части пакета; считается, что это различие может быть связано с изменениями давления жидкости на разные части пакета (т. е. большим давлением жидкости на дне пакета, по сравнению с верхом). Выход биомата составляет 498 г/м² на влажной основе (оценочно 124,5 г/м² на сухой основе), что дает скорость производства в сухом состоянии примерно 17,8 г/м²/день и эффективность превращения углерода примерно 35,8%.

Второй пакетный биореактор конструируют путем изготовления пакета из двойного слоя PVDF-мембраны с размером пор 5 мкм. В этом варианте осуществления, нитевидный гриб инокулируют через среду (т. е. изнутри пакета). Через 7 дней практически все сырье израсходовано, и эффективность превращения углерода оценивают как 73,4%. Процесс роста биомата в этом пакетном биореакторе показан на фигуре 26.

Пример 40: Биореактор из «перевернутой вверх дном» банки с закручивающейся крышкой.

Обращаясь теперь к фигуре 27А, проиллюстрирован «герметичный» (плотно закрытый от окружающей среды) вариант биореактора в соответствии с конфигурацией, обозначенной «4» на фигуре 23. Биореактор представляет собой «перевернутый вверх дном» биореактор с верхней банкой с закручивающейся крышкой (не изображена), расположенной над нижней банкой с закручивающейся крышкой (фигура 27А) и разделенный нейлоновой мембраной с размером пор 0,45 мкм. Через 10 дней роста получают биомат толщиной примерно 10 мм. На фигуре 27А показан контейнер для выращивания на 10 день, с сырьем на одной стороне мембраны и выращенным биоматом на другой стороне мембраны. На фигуре 27В показан биомат, собранный на 10 день, а на фигуре 27С показан его тонкий срез для использования в испытании прочности на разрыв (Пример 41, *ниже*).

В таблице 20 представлены различные характеристики биомата, показанного на Фигуре 27В.

Таблица 20. Характеристики биомата, выращенного в «перевернутом вверх дном» биореакторе из банки с закручивающейся крышкой

Площадь биомата	25,5 см ²
Влажная биомасса	17,5 г
Сухая биомасса	3,13 г
Выход (сухой вес)	1226 г/м ²
Плотность во влажном состоянии	0,684 г/см ³
Плотность в сухом состоянии	0,123 г/см ³
Фумонизины	0,0 ч./млн.
Эффективность превращения углерода	62,6%

Пример 41: Испытание прочности на разрыв биомата, выращенного в биореакторе из «перевернутой вверх дном» банки с закручивающейся крышкой.

Срез 5 см x 1 см биомата, показанного на фигуре 27В, отделяют лезвием бритвы, как показано на фигуре 27С. Толщину среза определяют штангенциркулем, и отрезанный образец помещают между двумя предметными стеклами таким образом, чтобы 1 см из 5 см длины образца был зажат между двумя предметными стеклами, при этом были приняты меры для того, чтобы не повредить образец чрезмерным давлением через стекла. Затем предметные стекла прикрепляют к прибору для испытания прочности на разрыв с помощью зажима, так чтобы натяжение зажима предотвращало скольжение образца. Два дополнительных предметных стекла используют для прижимания еще 1 см образца к противоположному концу. Емкость для воды, адаптированную для использования с аппаратом для испытания на разрыв, прикрепляют к предметным стеклам и заполняют водой со скоростью 1 мл в секунду до разрыва образца. При разрыве, массу воды, емкости, зажима и оставшегося образца взвешивают вместе; делением этой массы на толщину образца рассчитывают предел прочности на разрыв. Предел прочности на разрыв образца биомата, полученного в примере 40, по данным этого способа, составляет 1784 грамм-силы на квадратный сантиметр.

Пример 42: Использование «биомембраны»

Обращаясь теперь к фигурам 28А и 28В, типичная установка биореактора проиллюстрирована через 3 дня (фигура 28А) и 6 дней (фигура 28В) после инокуляции. Гриб инокулируют на стороне нейлоновой мембраны (размер пор 0,2 мкм), противоположной сырью, и биоматы растут со скоростью примерно 1 мм в день. После первоначального сбора на 3 день, когда было замечено, что нейлоновая мембрана была значительно деформирована, ту же мембрану используют повторно, и биомат примерно такой же толщины вырастает в течение следующих трех дней. Через 6 дней после инокуляции обнаруживают, что нейлоновая мембрана вышла из строя, но комбинация нейлона и самого биомата продолжает действовать как мембрана. Таким образом, неожиданно было обнаружено, что даже когда изначально предоставленная мембрана

выходит из строя, сам биомат может действовать как «биомембрана» на практике биореактора.

Пример 43: Продукты жизнедеятельности человека как сырье/среда для выращивания

Одним из преимуществ биореакторов настоящего описания и способов их использования является то, что продукты жизнедеятельности животных, включая, но не ограничиваясь ими, человеческую мочу и человеческие фекалии, сельскохозяйственные отходы и промышленные отходы, можно использовать в качестве сырья или среды для выращивания. Для этого примера среду на основе искусственной мочи (AUM) и среду на основе искусственных фекалий (AFM) готовят в соответствии с композициями, показанными в таблицах 21 и 22.

Таблица 21. Состав AUM

Компонент	Концентрация (г/л)
Дигидрат хлорида кальция	0,37
Гептагидрат сульфата магния	0,49
Натрия хлорид	5,2
Декагидрат сульфата натрия	3,2
Лимонная кислота	0,4
Молочная кислота	0,1
Монофосфат калия	0,95
Дифосфат калия	1,2
Хлорид аммония	1,3
Мочевина	10
Креатинин	0,8
Экстракт дрожжей	0,005
Бактериологический пептон	1
Гептагидрат сульфата железа	0,0012
Карбонат натрия	2,1
Вода	остаток

Таблица 22. Состав AFM

Компонент	Массовая доля
Вода	0,8
Сухие пекарские дрожжи	0,06
Микрокристаллическая целлюлоза	0,03
Псиллиум	0,035

Паста мисо	0,035
Олеиновая кислота	0,04
Хлорид натрия	0,004
Хлорид калия	0,004
Хлорид кальция	0,002

Биоматы выращивают на различных мембранах в простых биореакторах, используя подготовленные AUM и AFM в качестве сырья, в дополнение к образцам, использующим лигноцеллюлозную биомассу (эффективный источник углерода) в качестве сырья. Выходы биореактора, полученные при использовании этих комбинаций сырья/мембрана, приведены в таблице 23.

Таблица 23. Выход биореактора на AUM, AFM и лигноцеллюлозной биомассе

Материал мембраны и размер пор	Выход биореактора, сырье AFM:AUM (г/м ²)	Выход биореактора, сырье AUM (г/м ²)	Выход биореактора, лигноцеллюлозная биомасса (г/м ²)
Нет	317	342	
PVDF, 5 мкм	274	359	247
Нейлон, 0,2 мкм	196		145
MCE, 0,2 мкм	298		
MCE, 0,45 мкм	221		
PVDF, 0,2 мкм	251	348	

Биоматы, полученные в этих тестах, показаны на фигурах 30А и 30В. Кроме того, замечено, что биоматы, выращенные на 1:1, AFM, AUM, очень слабо прилипают к мембранам из PVDF и просто отваливаются при достижении определенной толщины/веса. Таким образом, предусмотрена система самосбора, в которой биоматы отваливаются от мембран после достижения определенного веса - не требуется физического/ручного удаления с мембраны.

Пример 44: Непрерывная подача сырья при отсутствии противодействия.

Сконструирован биореактор, обеспечивающий непрерывную подачу сырья в биореактор, что позволяет устранить противодействие, вызванное истощением жидкого сырья, и позволяет уравновесить жидкую исходную среду с внешней средой через газопроницаемый фильтр; это достигается путем просверливания отверстия в верхней колбе Эрленмейера и помещения воздушного фильтра в образовавшееся отверстие. Этот вариант осуществления проиллюстрирован на фигуре 31А, и более схематичная установка биореактора проиллюстрирована на фигуре 31В.

Использование нейлоновой мембраны с размером пор 0,2 мкм оказалось неэффективным в этом варианте осуществления, поскольку мембрана имеет тенденцию к

протечке. Напротив, полипропиленовая мембрана с размером пор 10 мкм выдерживает давление внутри биореактора и не выходит из строя, не трескается и не протекает.

Пример 45: Реакторная система на основе мембранно-пакетной биопленки (MBBR).

Реакторная система на основе с мембранно-пакетной биопленки (MBBR) может обеспечить масштабируемые и удобные средства для производства плотной пригодной к применению биомассы, в том числе за счет использования отходов и углеродных субстратов, которые, как ожидается, будут доступны, например, в космических полетах с экипажем или в наземных областях применения. MBBR может предоставить легкую, компактную, простую и многоразовую систему для культивирования нитевидных грибов, которые могут применяться, в качестве неограничивающего примера, не только в качестве пищевого продукта, но и в фармацевтических препаратах, нутрицевтиках, топливе, аналогах кожи, текстиля и т. д. и/или строительных материалов.

Трехслойную ткань Gore-Tex выбирают в качестве мембраны MBBR из-за ее прочности, водостойкости и свойств газообмена. Пакеты изготовлены с использованием термоплавкой герметизирующей ленты для обеспечения водонепроницаемых швов, также используют простая роликовая система укупорки для герметизации верхней части пакета и прикрепления его к опоре. Наружную поверхность пакетов инокулируют штаммом нитевидных грибов МК7 и заполняют питательной средой, затем закрывают верхние части пакетов и подвешивают на штативе в герметичной коробке с контролируемой температурой и влажностью (50 см x 50 см x 70 см, $25 \pm 1^\circ\text{C}$, примерно 95% относительной влажности). Через 3 дня, каждый мешок полностью покрыт слоем биомата штамма МК7, демонстрирующего толстый слой гиф, гиф воздушного мицелия и мицелия. Рост биомата через 5 дней показан на фигуре 32. К концу 7-дневного периода роста в пакетах полностью израсходовалось глицериновое сырье, и расчетное превращение глицеринового сырья в сухой биомат составило примерно 35% без учета глицерина, сорбированного тканью мембраны.

Пример 46: Влияние материала мембраны и размера пор на рост биомата.

Испытания в простых биореакторах проводят в идентичных условиях с использованием четырех разных мембранных материалов с пятью разными размерами пор (всего 20 разных мембран). Характеристики мембран приведены в таблице 24.

Таблица 24. Материалы и характеристики мембран

№ образца	Материал	Гидрофильный или гидрофобный?	Размер пор, мкм	Толщина, мм	Расход воды на площадь, см/мин	Точка пузырька, кПа
1	PTFE на	Гидрофобный	0,2	0,2 ± 0,1	>6,2	>140
2	PP		0,45		>30,9	>70
3	подложке		1		>86,6	>24

4			3		>98,17	>14
5			5		>196,9	>7
6	PP без подложки	Гидрофобн ый	0,2		>18	>14
7			0,45		>54,2	>9
8			1		>120	>4
9			3		>180,5	>3,5
10			5		>240,7	>3
11	Нейлон на подложке из PET	Гидрофильн ый	0,2	0,085- 0,14	>4	310-410
12			0,45		>16	150-250
13			1		>85	80-120
14			3		>165	40-60
15			5		>240	30-50
16	PVDF на подложке из PET	Гидрофобн ый	0,2	0,085- 0,12	>5	70-150
17			0,45		>10	40-80
18			1		>20	25-35
19			3		>40	15-20
20			5		>50	10-15

Некоторые характеристики биоматов, выращенных на этих мембранах, приведены в таблице 25.

Таблица 25. Характеристики биоматов

№ образца	Толщина, см		Площадь, см ²		Плотность во влажном состоянии, г/см ³		Сухой выход, г/см ²	
	AUM	МК	AUM	МК	AUM	МК	AUM	МК
1	0,1	0,2	4,9	3,14	1,05	0,71	84	261
2	0,2	0,2	3,14	9,62	0,96	0,43	169	128
3	0,25	0,1	4,9	9,62	0,59	0,62	245	113
4	0,3	0,4	4,9	9,62	0,75	0,31	241	195
5	0,2	0,5	3,94	9,62	1,17	0,28	203	165
6	0,2	0,1	4,52	9,62	1,03	0,56	55	4
7		0,3		9,62		0,30		37
8	0,3		9,62	9,62	0,22		109	61
9	0,2		9,62	9,62	0,48		122	75
10	0,3	0,6	9,62	9,62	0,34	0,36	79	213

11	0,5	0,7	9,62	9,62	0,404	0,611	342	507
12	0,2	0,55	9,62	9,62	0,412	0,380	150	298
13		0,55		9,62		0,618		532
14		0,55		9,62		0,553		435
15	0,4	0,1	9,62	9,62	0,368	0,466	321	67

Минимальная плотность биоматов, наблюдаемая в этих экспериментах, составляет 0,22 г/см³ во влажном состоянии и 0,036 г/см³ в сухом состоянии.

Визуальный осмотр образцов этого примера позволил сделать несколько выводов. В мембранах из PTFE и PP, которые характеризуются большей толщиной и извилистостью, оказалось, что значительные количества биомассы накапливаются внутри самой мембраны и, таким образом, недоступны для сбора; более того, в мембранах из PTFE инокулят грибов не «распределялся», чтобы покрыть всю поверхность мембраны, а его необходимо наносить с помощью распылителя, вакуумного насоса, ватной палочки, кисти или подобного, и в результате биомат не растет по всей площади мембраны. Кроме того, нейлоновая мембрана на PET подложке не имеет тех же проблем структурной целостности (растрескивание, разрушение и т.д.), которые характерны для мембран из чистого нейлона из предыдущих примеров. Предполагается, что плохие результаты для гидрофобного PVDF с мембранами на PET подложке вызваны более тонкой и гладкой мембраной, использованной для этих экспериментов, что приводит к меньшей способности грибных тел закрепляться на мембране (проблема, которая потенциально могла быть решена путем придания мембране шероховатости), но мембраны из PVDF также характеризуются образованием толстой «слизи», которая требует дальнейшего изучения. Другая возможность состоит в том, что эффективность гидрофобного PVDF с PET подложкой была больше из-за значительно более низких скоростей потока жидкости через мембраны по сравнению с такой же тонкой и гладкой нейлоновой мембраной (см. таблицу 24). Мембраны из нейлона и PVDF также вышли довольно «чистыми», т.е. пригодными для повторного использования. 0,2 гидрофобный PVDF-PET был довольно чистым, но 0,45, 1, 3 или 5 имели слизь. Гидрофильный PVDF 0,2 или 5,0 не имел слизи (см. данные в таблице 19).

Еще один результат, который следует отметить, заключается в том, что, хотя выходы имеют тенденцию к увеличению с увеличением размера пор для мембран из PTFE и PP, противоположная тенденция наблюдается для нейлоновых мембран на PET подложке. Не желая быть связанными какой-либо конкретной теорией, предполагается, что гидрофильная природа этой мембраны может, в вариантах осуществления с большими порами, обеспечивать условия, слишком «влажные» для оптимального роста биомата, и что тенденция может быть иной, если мембрану «перевернуть» в попытке вырастить биомат на гидрофобной поверхности.

Пример 47: Испытание прочности на разрыв

Прочность на разрыв различных образцов биоматов тестируют по методике,

описанной в примере 41. Характеристики биоматов и результаты испытаний приведены в таблице 26.

Таблица 26. Характеристики биоматов

Мембрана	Среда	Площадь мембраны, см ²	Возраст биомата, дни	Толщина биомата, мм	Плотность в во влажном состоянии, г/см ³	Площадь тест-полоски	Предел прочности на разрыв, гс/см ²
Нейлон, 0,2 мкм	МК	25,5	10	10	0,68	4 см x 0,1 см	1784
PVDF-PET, 0,2 мкм (гидрофобный)	AU M	25,5	10	5	0,52	2 см x 1 см	998
PVDF, 0,2 мкм (гидрофильный)	AU M	9,62	7	5	0,37	2,6 см x 0,9 см	1080
Нейлон-PET, 1,0 мкм	МК	9,62	5	5.5	0,62	2,4 см x 0,8 см	661
Нейлон-PET, 0,2 мкм	МК	9,62	5	7	0,61	2,4 см x 0,9 см	682
Нейлон-PET, 0,2 мкм	AU M	9,62	5	5	0,40	2,3 см x 0,9 см	748

Пример 48: Биореакторы, устраняющие противодавление.

Биореакторы, которые устраняют противодавление, возникающее в результате потребления сырья, по существу соответствующие обобщенной схеме, представленной на фигуре 31А, конструируют и используют для проверки работы различных мембран под давлением жидкости. Результаты этих испытаний приведены в таблице 27.

Таблица 27. Характеристики давления жидкости различных типов мембран

Материал мембраны	Размер пор, мкм	Мембрана гидрофильная или гидрофобная?	Материал подложки	Подложка гидрофильная или гидрофобная?	Высота столба жидкости, см	Результат
-------------------	-----------------	----------------------------------------	-------------------	----------------------------------------	----------------------------	-----------

Нейлон	0,2	Гидрофильная	Нет	н/д	н/д	Немедленная протечка
Нейлон	0,2	Гидрофильная	PET	Гидрофобная	н/д	Немедленная протечка
Полипропилен	10,0	Гидрофобная	Нет	н/д	11	Медленная протечка, с нарастанием слоев на мембране
PTFE	0,22	Гидрофобная	PP	Гидрофобная	8,3	Нет протечек, на мембране нарастает слой
PTFE	0,45	Гидрофобная	PP	Гидрофобная	8,3	Нет протечек
PTFE	1,0	Гидрофобная	PP	Гидрофобная	9	Нет протечек, на мембране нарастает слой
PTFE	3,0	Гидрофобная	PP	Гидрофобная	н/д	Немедленная протечка
PTFE	5,0	Гидрофобная	PP	Гидрофобная	н/д	Немедленная протечка

Эти результаты указывают на то, что гидрофильные мембраны и мембраны с большими размерами пор менее способны выдерживать гидростатическое давление, чем гидрофобные мембраны с мелкими порами. Предполагается, не желая быть связанными какой-либо конкретной теорией, что гидрофильные мембраны и мембраны с большими порами, которые легко пропускают сырье, могут быть более подходящими для применений, в которых сырье располагается под мембраной, в то время как гидрофобные мембраны с мелкими порами могут быть более подходящими для применений, в которых сырье располагается над мембраной. Также предполагается, что изменения давления жидкости могут позволить оператору биореактора регулировать или настраивать скорость роста биомата или другие характеристики биомата и/или способствовать удалению биомата с мембраны *in situ*.

Пример 49: Влияние условий освещения на рост биомата

Штамм грибов МК7 инокулируют на нейлоновые и полипропиленовые мембраны и выращивают биомат в светлых и темных условиях. Хотя все слои выглядели идентичными через 4 дня роста, к 7 дню биоматы, выращенные в условиях освещения,

начали умирать, вероятно, из-за истощения питательных веществ в исходном сырье. Биоматы, выращенные в темноте, напротив, выглядели здоровыми после 7 дня и, по-видимому, выделяли небольшие пузырьки газа, что указывает на другой метаболический путь, чем у биоматов, выращенных в условиях света. Биоматы, выращенные в темноте, не начинали темнеть и казаться нездоровыми до 14 дня. Эти результаты проиллюстрированы на фигуре 34 («N» обозначает нейлоновую мембрану, «P» обозначает полипропиленовую мембрану).

Пример 50: Сравнение содержания белка

Каждый из нескольких нитевидных грибов выращивают, по меньшей мере, одним способом, выбранным из поверхностной ферментации по настоящему изобретению, погруженной ферментации по способам известного уровня техники, и выращивания плодовых тел (т.е. «естественным»). В каждом случае поверхностной ферментации, отношение углерода к азоту в жидкой питательной среде составляет 7,5. Среднее содержание белка для каждого гриба, выращенного каждым способом, представлено в таблице 28.

Таблица 28. Сравнительное содержание белка

Гриб	Способ выращивания	Среда для выращивания	Содержание белка (% масс.)
Штамм МК7	Поверхностная	МК7-102	51,0
		R1 фруктоза	51,4
	Погруженная	МК7 глицерин	34,6
<i>Sparassis crispa</i>	Поверхностная	Солод 001	46,2
	Плодовое тело	н/д	8,9
<i>Morchella conica</i>	Поверхностная	Солод 001	44,1
	Плодовое тело	н/д	34,3

Результаты этого примера демонстрируют, что способы поверхностной ферментации по настоящему изобретению дают биоматы нитевидных грибов, имеющие большее содержание белка, чем может быть достигнуто либо погруженной ферментацией, либо естественным ростом плодовых тел грибов. Еще более конкретно, способы по настоящему изобретению позволяют получать биоматы с содержанием белка, по меньшей мере, примерно 40% масс., что для многих видов нитевидных грибов не может быть достигнуто никаким ранее известным способом.

Пример 51: Твердая подложка из сетки

1,75 кг источника углерода 1:1 сахара:фруктоза в среде M2 выливают в 10" x 13" лоток Ругех. Отрез 0,09 м² полиолефиновой сетки №7 (размер ячейки 2 мм, материал, предположительно, LDPE) покрывают инокулятом штамма МК7 и кладут на поверхность среды для выращивания, после чего лоток культивируют при 27°C в течение 72 часов. Наблюдается, что начальное образование биомата происходит быстрее на поверхности

сетки, чем на объемной среде в лотке.

Первую часть биомата собирают из лотка путем разрезания по периметру полиолефиновой сетки, и вторую часть биомата собирают из лотка путем разрезания по периферии лотка. Сразу становится очевидно, что биомат, собранный с поверхности сетки (влажная масса 70 г), имел гораздо более низкое содержание захваченной жидкой среды для выращивания, чем образец с поверхности среды (влажная масса 144 г).

Оба образца биомата обрабатывают пропариванием в течение 30 минут с последующим замачиванием в воде при 50°C на 15 минут и ручным прессованием. Конечная (высушенная) масса биомата, собранного с поверхности сетки, составляет 30 г (333,33 г/м²), в то время как конечная (высушенная) масса биомата, собранного из основной среды, составляет 24 г (266,67 г/м²). Таким образом, этот пример свидетельствует о том, что выходы биомата могут быть улучшены примерно на 20%, простым использованием твердой сетки в качестве каркаса или подложки, на которую могут быть прикреплены биоматные структуры.

Пример 52: Эксперимент с обновленной средой со степной вешенкой и грибом рейши

Повторяют методику эксперимента процедуру (включая контрольное сравнение) примера 2, за исключением того, что вместо штамма МК7 используют степную вешенку (*Pleurotus eryngii*) и гриб рейши (*Ganoderma lucidum*), используют сетчатую подложку, как в примере 51, и эксперимент проводят в течение 22 дней, с измерениями общего роста биомата, полученными через 5, 10 и 22 дня. Результаты приведены в таблице 29 (все выходы даны в граммах сухой массы на квадратный метр).

Таблица 29. Рост грибов на сетчатой подложке по сравнению с контролем

День	Степная вешенка		Рейши	
	Обновление	Контроль	Обновление	Контроль
5	120	78	108	87
10	238	143	239	129
22	444	128	433	132

Пример 53: Характеристики среды и влияние на содержание белка

Среду на основе искусственной мочи («АУМ»), среду на основе лигноцеллюлозной биомассы («ЛСВМ») и среду МК102 готовят в соответствии с композициями в таблицах 28, 29 и 30 соответственно.

Таблица 30. Состав среды на основе искусственной мочи

Компонент	Концентрация (г/л)
Дигидрат хлорида кальция	0,37
Гептагидрат сульфата магния	0,49
Хлорид натрия	5,2
Сульфат натрия	1,41

Цитрат тринатрия	0,61
Лактат лития	0,1
Фосфат калия	0,95
Монофосфат калия	1,2
Хлорид аммония	1,3
Мочевина	10
Креатинин	0,8
Экстракт дрожжей	0,005
Бактериологический пептон	1
Гептагидрат сульфата железа	2,1
Вода	остальное

Таблица 31. Состав лигноцеллюлозной биомассы

Компонент	Концентрация (г/л)
Молотое сено	100
Нитрат аммония	10,5
Мочевина	3,5
Хлорид кальция	1
Гептагидрат сульфата магния	1
Фосфат калия	4
Следы без ЭДТК	0,4
Экстракт дрожжей	2
Вода	остальное

Таблица 32. Состав среды МК102

Компонент	Концентрация (г/л)
Нитрат аммония	10,5
Мочевина	3,5
Хлорид кальция	1
Гептагидрат сульфата магния	1
Фосфат калия	4
Следы без ЭДТК	0,4
Глицерин	10
Экстракт дрожжей	2
Вода	остальное

Затем среду подкисляют хлористоводородной (для АУМ и МК102) или серной (для

LCBM) кислотой до достижения pH 3,5. Определяют ионную силу и осмоляльность среды, и слои выращивают на каждой среде, а затем обезвоживают и/или сушат и анализируют для определения содержания белка. Результаты этих определений приведены в таблице 31.

Таблица 31. Сравнение сред и слоев, выращенных на них

Компонент	Ионная сила (ммоль/л)	Осмоляльность (мОсм)	Лучший выход (г/м²)	Содержание белка
AUM	308,5	1902	359	43,8%
MK102	296	1804	507	41,2%
LCBM	1401,6	2723	247,4	Не сообщается

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Питательное вещество, содержащее частицы нитевидных грибов, принадлежащих отряду, выбранному из группы, состоящей из Mucorales, Ustilaginales, Russulales, Polyporales, Agaricales, Pezizales и Нурocreales, где нитевидные грибы содержат более примерно 40% масс. белкового содержания и менее примерно 8% масс. РНК содержания.

2. Питательное вещество по п. 1, отличающееся тем, что нитевидный гриб принадлежит семейству, выбранному из группы, состоящей из Mucoraceae, Ustilaginaceae, Hericiaceae, Polyporaceae, Grifolaceae, Lyophyllaceae, Strophariaceae, Lycoperdaceae, Agaricaceae, Pleurotaceae, *Physalacriaceae*, *Ophiocordycipitaceae*, Tuberaceae, *Morchellaceae*, Sparassidaceae, Nectriaceae, *Bionectriaceae* и Cordycipitaceae.

3. Питательное вещество по п. 1, отличающееся тем, что нитевидный гриб принадлежит к видам, выбранным из группы, состоящей из *Rhizopus oligosporus*, *Ustilago esculenta*, *Hericululm erinaceus*, *Polyporous squamosus*, *Grifola fondrosa*, *Hypsizyugus marmoreus*, *Hypsizyugus ulmarius* (*зунцизугус ильмовый*) *Calocybe gambosa*, *Pholiota nameko*, *Calvatia gigantea*, *Agaricus bisporus*, *Stropharia rugosoannulata*, *Hypholoma lateritium*, *Pleurotus eryngii*, *Pleurotus ostreatus* (*вешенка обыкновенная*), *Pleurotus ostreatus var. columbinus* (*устричный гриб*), *Tuber borchii*, *Morchella esculenta*, *Morchella conica*, *Morchella importuna*, *Sparassis crispa* (*спарассис кудрявый*), *Fusarium venenatum*, штамм МК7 (номер доступа в АТСС РТА-10698), *Disciotis venosa*, *Clonostachys rosea*, *Cordyceps militaris*, *Trametes versicolor*, *Ganoderma lucidum*, *Flammulina velutipes*, *Lentinula edodes*, *Pleurotus djamor*, *Pleurotus ostreatus* и *Leucoagaricus* spp.

4. Питательное вещество по п. 1, отличающееся тем, что нитевидным грибом является вид *Fusarium*.

5. Питательное вещество по п. 1, отличающееся тем, что нитевидным грибом является *Fusarium venenatum*.

6. Питательное вещество по п. 1, отличающееся тем, что нитевидным грибом является штамм МК7 (номер доступа в АТСС РТА-10698).

8. Питательное вещество по п. 1, отличающееся тем, что нитевидный гриб имеет характеристику, выбранную из группы, состоящей из:

- a. содержит более примерно 45% масс. белкового содержания;
- b. содержит более примерно 50% масс. белкового содержания;
- c. содержит более примерно 55% масс. белкового содержания;
- d. содержит более примерно 60% масс. белкового содержания;
- e. содержит менее примерно 5% масс. РНК содержания;
- f. содержит менее примерно 4% масс. РНК содержания;
- g. содержит менее примерно 3% масс. РНК содержания;
- h. содержит менее примерно 2% масс. РНК содержания; а также
- i. комбинации одного из a-d и одного из e-h.

8. Питательное вещество по п. 1, отличающееся тем, что нитевидный гриб

содержит менее чем примерно 10 ч./млн. микотоксина, выбранного из группы, состоящей из Альфатоксина В1, Альфатоксина В2, Альфатоксина G1, Альфатоксина G2, Фумонизина В1, Фумонизина В2, Фумонизина В3, Охратоксина А, Ниваленола, Деоксиниваленола, Ацетилдеоксиниваленола, Фузаренона Х, Т-2 токсина, НТ-2 токсина, Неозоланиола, Диацетоксисцирпенола, зеараленона, боверицина, фузарина С, фузариновой кислоты и любых их комбинаций.

9. Питательное вещество по п. 1, отличающееся тем, что нитевидные грибы содержат менее примерно 10 ч./млн. общего содержания микотоксина.

10. Питательное вещество по п. 1, отличающееся тем, что нитевидные грибы содержат менее примерно 5 ч./млн. общего содержания микотоксина.

11. Питательное вещество по п. 1, отличающееся тем, что нитевидные грибы содержат более примерно 15% масс. аминокислот с разветвленной цепью или более 20% масс. аминокислот с разветвленной цепью.

12. Питательное вещество по п. 1, отличающееся тем, что частицы нитевидных грибов имеют форму муки.

13. Питательное вещество по п. 12, отличающееся тем, что мука имеет размер частиц 30-400 микрон.

14. Питательное вещество по п. 1, отличающееся тем, что частицы имеют длину от примерно 0,05 мм до примерно 500 мм, ширину от примерно 0,03 мм до примерно 7 мм и высоту от примерно 0,03 мм до примерно 1,0 мм.

15. Питательное вещество по п. 1, отличающееся тем, что питательным веществом является жидкая дисперсия частиц нитевидных грибов.

16. Питательное вещество по п. 15, отличающееся тем, что жидкую дисперсию получают в атмосфере, богатой азотом.

17. Питательное вещество по п. 15, отличающееся тем, что жидкая дисперсия частиц нитевидных грибов стабильна в течение, по меньшей мере, примерно 1 дня, по меньшей мере, примерно 2 дней, по меньшей мере, примерно 3 дней, по меньшей мере, примерно 4 дней или, по меньшей мере, примерно 5 дней.

18. Питательное вещество по п. 1, отличающееся тем, что питательное вещество является веганским.

19. Питательное вещество по п. 1, отличающееся тем, что частицы нитевидных грибов являются единственным белковым компонентом, присутствующим в питательном веществе.

20. Питательное вещество по п. 1, отличающееся тем, что частицы нитевидных грибов содержат все незаменимые аминокислоты.

21. Питательное вещество по п. 1, в котором частицы нитевидных грибов нежизнеспособны.

22. Пищевой продукт-аналог йогурта, содержащий частицы нитевидный грибов, принадлежащих к роду, выбранному из группы, состоящей из Mucorales, Ustilaginales, Russulales, Polyporales, Agaricales, Pezizales и Hymenochaetales, где нитевидный гриб содержит

более чем примерно 40% масс. белкового содержания и менее примерно 8% масс. РНК содержания.

23. Пищевой продукт-аналог йогурта по п. 22, отличающийся тем, что нитевидный гриб принадлежит семейству, выбранному из группы, состоящей из Mucoraceae, Ustilaginaceae, Hericiaceae, Polyporaceae, Grifolaceae, Lyophyllaceae, Strophariaceae, Lycoperdaceae, Agaricaceae, Pleurotaceae, *Physalacriaceae*, *Ophiocordycipitaceae*, Tuberaeae, *Morchellaceae*, Sparassidaceae, Nectriaceae, *Bionectriaceae* и Cordycipitaceae.

24. Пищевой продукт-аналог йогурта по п. 22, отличающийся тем, что нитевидный грибу принадлежит к видам, выбранным из группы, состоящей из *Rhizopus oligosporus*, *Ustilago esculenta*, *Hericululm erinaceus*, *Polyporous squamosus*, *Grifola fondrosa*, *Hypsizyugus marmoreus*, *Hypsizyugus ulmarius* (*гунцизугус ильмовый*) *Calocybe gambosa*, *Pholiota nameko*, *Calvatia gigantea*, *Agaricus bisporus*, *Stropharia rugosoannulata*, *Hypholoma lateritium*, *Pleurotus eryngii*, *Pleurotus ostreatus* (*вешенка обыкновенная*), *Pleurotus ostreatus var. columbinus* (*устричный гриб*), *Tuber borchii*, *Morchella esculenta*, *Morchella conica*, *Morchella importuna*, *Sparassis crispa* (*спарассис кудрявый*), *Fusarium venenatum*, штамм МК7 (номер доступа в ATCC PTA-10698), *Disciotis venosa*, *Clonostachys rosea*, *Cordyceps militaris*, *Trametes versicolor*, *Ganoderma lucidum*, *Flammulina velutipes*, *Lentinula edodes*, *Pleurotus djamor*, *Pleurotus ostreatus* и *Leucoagaricus* spp.

25. Пищевой продукт-аналог йогурта по п. 22, отличающийся тем, что нитевидным грибом является вид *Fusarium*.

26. Питательное вещество по п. 22, отличающееся тем, что нитевидным грибом является *Fusarium venenatum*.

27. Питательное вещество по п. 22, отличающееся тем, что нитевидным грибом является штамм МК7 (номер доступа в ATCC PTA-10698).

28. Питательное вещество по п. 22, отличающееся тем, что нитевидный гриб имеет характеристику, выбранную из группы, состоящей из:

- a. содержит более примерно 45% масс. белкового содержания;
- b. содержит более примерно 50% масс. белкового содержания;
- c. содержит более примерно 55% масс. белкового содержания;
- d. содержит более примерно 60% масс. белкового содержания;
- e. содержит менее примерно 5% масс. РНК содержания;
- f. содержит менее примерно 4% масс. РНК содержания;
- g. содержит менее примерно 3% масс. РНК содержания;
- h. содержит менее примерно 2% масс. РНК содержания; а также
- i. комбинации одного из a-d и одного из e-h.

29. Пищевой продукт-аналог йогурта по п. 22, в котором соотношение частиц нитевидных грибов и воды варьируется от примерно 1:10 до примерно 10:1.

30. Пищевой продукт-аналог йогурта по п. 22, в котором соотношение частиц нитевидных грибов и воды выбрано из группы, состоящей из примерно 1:4, примерно 1:3, примерно 1:2, примерно 1:1, примерно 2:1, примерно 3:1 и примерно 4:1.

31. Пищевой продукт-аналог йогурта по п. 22, дополнительно содержащий инвертный сахар.

32. Пищевой продукт-аналог йогурта по п. 22, дополнительно содержащий загуститель.

33. Пищевой продукт-аналог йогурта по п. 22, отличающийся тем, что клетки нитевидных грибов лизированы.

34. Пищевой продукт-аналог йогурта по п. 22, дополнительно содержащий *Lactobacillus bulgaricus* и *Streptococcus thermophilus*.

35. Пищевой продукт-аналог йогурта по п. 22, отличающийся тем, что продукт является веганским.

36. Пищевой продукт-аналог йогурта по п. 22, отличающийся тем, что частицы нитевидных грибов содержат все незаменимые аминокислоты.

37. Пищевой продукт-аналог йогурта по п. 22, в котором частицы нитевидных грибов являются единственным белковым компонентом.

38. Пищевой продукт-аналог йогурта по п. 22, в котором частицы нитевидных грибов нежизнеспособны.

39. Пищевой продукт-аналог йогурта по п. 22, дополнительно содержащий сычужный фермент.

40. Пищевой продукт-аналог йогурта по п. 39, отличающийся тем, что сычужный фермент происходит из источника, выбранного из группы, состоящей из животного источника, вегетарианского источника и микробного источника.

41. Пищевой продукт-аналог йогурта по п. 39, отличающийся тем, что сычужный фермент получен из источника, выбранного из группы, состоящей из вегетарианского источника и микробного источника.

42. Пищевой продукт-аналог йогурта по п. 35, который не содержит сухое молоко.

43. Пищевой продукт-аналог йогурта по п. 22, дополнительно содержащий пробиотик.

44. Пищевой продукт-аналог йогурта по п. 22, дополнительно содержащий ферментативную воду.

45. Вспененный материал, содержащий:

а. частицы биомата нитевидных грибов;

б. водную фазу;

где содержание твердых веществ во вспененном материале составляет от примерно 5% до примерно 30%, и где пена является стабильной.

46. Вспененный материал по п. 45, отличающийся тем, что вспененный материал не разрушается самопроизвольно сразу после прекращения процесса вспенивания во время его производства.

47. Вспененный материал по п. 45, отличающийся тем, что вспененный материал стабилен в течение, по меньшей мере, примерно 7 дней.

48. Вспененный материал по п. 45, отличающийся тем, что вспененный материал

имеет взбитость, по меньшей мере, примерно 10%.

49. Пеноматериал по п. 45, отличающийся тем, что биомат нитевидных грибов включает виды *Fusarium*.

50. Вспененный материал по п. 45, отличающийся тем, что вспененный материал не содержит сухое молоко.

51. Пищевой продукт, содержащий вспененный материал по п. 45.

52. Биореактор, содержащий:

контейнер;

по меньшей мере, одну мембрану, расположенную внутри или на поверхности контейнера, причем по меньшей мере, одна мембрана содержит первую поверхность и вторую поверхность;

сырье для роста нитевидных грибов, контактирующее с первой поверхностью, по меньшей мере, одной мембраны; и

инокулят нитевидных грибов, расположенный либо на первой, либо на второй поверхности, по меньшей мере, одной мембраны,

где, при культивировании инокулята в биореакторе, биомат нитевидных грибов образуется на второй поверхности, по меньшей мере, одной мембраны после периода роста биомата.

53. Биореактор по п. 52, отличающийся тем, что контейнером является пакет, в котором первая и вторая поверхности, по меньшей мере, одной мембраны, являются первой и второй поверхностями, по меньшей мере, части пакета.

54. Биореактор по п. 52, отличающийся тем, что сырье подвергается воздействию положительного или отрицательного давления, применяемого к стороне сырья, противоположной, по меньшей мере, одной из первой поверхности и второй поверхности, по меньшей мере, одной мембраны.

55. Биореактор по п. 52, дополнительно содержащий цианобактерии, отличающийся тем, что цианобактерии обеспечивают, по меньшей мере, один из газообразного кислорода и углерода, чтобы способствовать росту биомата.

56. Биореактор по п. 52, отличающийся тем, что, по меньшей мере, одно из следующего является верным:

i) плотность биомата составляет, по меньшей мере, примерно 0,05 грамм на кубический сантиметр; и

ii) плотность от биомата после сушки составляет, по меньшей мере, примерно 0,01 грамм на кубический сантиметр.

57. Биореактор по п. 52, отличающийся тем, что биомат содержит, по меньшей мере, один слой.

58. Биореактор по п. 52, отличающийся тем, что биомат имеет прочность на разрыв, по меньшей мере, примерно 3 килопаскаля или, по меньшей мере, примерно 30 грамм-силы на квадратный сантиметр.

59. Биореактор по п. 58, отличающийся тем, что биомат имеет прочность на

разрыв, по меньшей мере, примерно 100 килопаскалей или, по меньшей мере, примерно 1020 грамм-силы на квадратный сантиметр.

60. Биореактор по п. 52, отличающийся тем, что, по меньшей мере, одна мембрана содержит, по меньшей мере, один полимер, выбранный из группы, состоящей из полипропиленов, политетрафторэтиленов, поликарбонатов, полиамидов, ацетата целлюлозы, поливинилиденфторидов, смешанных сложных эфиров целлюлозы, полиэфирсульфонов, полиэтиленов и полипирролов.

61. Биореактор по п. 52, отличающийся тем, что, по меньшей мере, одна мембрана содержит, по меньшей мере, один материал, выбранный из группы, состоящей из полипропиленового полотна, политетрафторэтиленового полотна и нейлонового сетчатого фильтра.

62. Биореактор по п. 52, отличающийся тем, что, по меньшей мере, одна мембрана содержит, по меньшей мере, один из материала из стекловолокна и пористого керамического материала.

63. Биореактор по п. 52, отличающийся тем, что средний размер пор, по меньшей мере, одной мембраны составляет от примерно 0,2 мкм до примерно 25 мкм.

64. Биореактор по п. 63, отличающийся тем, что средний размер пор, по меньшей мере, одной мембраны составляет от примерно 5 мкм до примерно 11 мкм.

65. Биореактор по п. 52, отличающийся тем, что контейнер закрыт и по существу воздухонепроницаем, где контейнер включает свободное пространство для газа, в котором растет биомат.

66. Биореактор по п. 52, отличающийся тем, что биомат самопроизвольно отделяется от, по меньшей мере, одной мембраны.

67. Биореактор по п. 52, отличающийся тем, что, когда биомат удаляют, по меньшей мере, с одной мембраны, новый инокулят нитевидных грибов остается, по меньшей мере, на одной мембране.

68. Биореактор по п. 52, отличающийся тем, что нитевидный гриб принадлежит отряду, выбранному из группы, состоящей из Mucorales, Ustilaginales, Russulales, Polyporales, Agaricales, Pezizales и Hyrocerales.

69. Биореактор по п. 52, отличающийся тем, что нитевидный гриб принадлежит семейству, выбранному из группы, состоящей из Mucoraceae, Ustilaginaceae, Hericiaceae, Polyporaceae, Grifolaceae, Lyophyllaceae, Strophariaceae, Lycoperdaceae, Agaricaceae, Pleurotaceae, Physalacriaceae, Ophiocordycipitaceae, Tuberaceae, Morchellaceae, Sparassidaceae, Nectriaceae, Bionectriaceae и Cordycipitaceae.

70. Биореактор по п. 52, отличающийся тем, что нитевидный гриб выбран из группы, состоящей из штамма *Rhizopus oligosporus*, *Ustilago esculenta*, *Hericululm erinaceus*, *Polyporous squamosus*, *Grifola fondrosa*, *Hypsizygyus marmoreus*, *Hypsizygyus ulmarius* (*гунцизигус ильмовый*) *Calocybe gambosa*, *Pholiota nameko*, *Calvatia gigantea*, *Agaricus bisporus*, *Stropharia rugosoannulata*, *Hypholoma lateritium*, *Pleurotus eryngii*, *Pleurotus ostreatus* (*вешенка обыкновенная*), *Pleurotus ostreatus var. columbinus* (*устричный*

гриб), *Tuber borchii*, *Morchella esculenta*, *Morchella conica*, *Morchella importuna*, *Sparassis crispa* (снарассис кудрявый), *Fusarium venenatum*, штамм МК7 (номер доступа в ATCC PTA-10698), *Disciotis venosa* и *Cordyceps militaris*, *Trametes versicolor*, *Ganoderma lucidum*, *Flammulina velutipes*, *Lentinula edodes*, *Pleurotus djamor*, *Pleurotus ostreatus*, *Leucoagaricus holosericeus*, *Calvatia fragilis*, *Handkea utrififormis* и *Pholiota adiposa*.

71. Биореактор по п. 52, отличающийся тем, что сырье включает, по меньшей мере, одно из фекалий животного и мочи животного.

72. Биореактор по п. 71, отличающийся тем, что животным является человек.

73. Биореактор по п. 52, отличающийся тем, что, по меньшей мере, одной мембраной является единая композитная мембрана, в которой первая поверхность содержит первый материал, а вторая поверхность содержит второй материал.

74. Биореактор по п. 52, отличающийся тем, что, по меньшей мере, одна мембрана содержит, по меньшей мере, первую мембрану и вторую мембрану, где первой поверхностью является поверхность первой мембраны, и второй поверхностью является поверхность второй мембраны.

75. Биореактор по п. 74, отличающийся тем, что первая и вторая мембраны находятся в физическом контакте друг с другом.

76. Биореактор по п. 52, дополнительно содержащий селективную газопроницаемую мембрану, отличающийся тем, что первый газ, образующийся во время роста биомата, выборочно отделяется в свободное пространство для газа на первой стороне селективной газопроницаемой мембраны.

77. Биореактор по п. 76, отличающийся тем, что второй газ, образующийся во время роста биомата, избирательно отделяется в свободное пространство для газа на второй стороне мембраны.

78. Способ получения биомата нитевидных грибов, включающий:

инокуляцию нитевидных грибов в биореактор, где биореактор содержит:
контейнер;

по меньшей мере, одну мембрану, расположенную внутри или на поверхности контейнера, где, по меньшей мере, одна мембрана содержит первую поверхность и вторую поверхность, где одна или обе из первой и второй поверхностей приспособлены для приема на них инокулята нитевидного гриба; и

сырье для роста нитевидного гриба, контактирующее с первой поверхностью, по меньшей мере, одной мембраны.

79. Способ по п. 78, отличающийся тем, что контейнером является пакет, в котором первая и вторая поверхности, по меньшей мере, одной мембраны являются первой и второй поверхностями, по меньшей мере, части пакета.

80. Способ по п. 78, отличающийся тем, что сырье подвергают воздействию положительного или отрицательного давления, применяемого к стороне сырья, противоположной первой поверхности, по меньшей мере, одной мембраны.

81. Способ по п. 80, отличающийся тем, что положительное или отрицательное

давление облегчает стадию инокуляции.

82. Способ по п. 78, дополнительно включающий помещение цианобактерий в биореактор, отличающийся тем, что цианобактерии обеспечивают, по меньшей мере, один из газообразного кислорода и углерода, чтобы способствовать росту биомата.

83. Способ по п. 78, отличающийся тем, что, по меньшей мере, одно из следующего является верным:

i) плотность биомата после сбора составляет, по меньшей мере, примерно 0,6 грамма на кубический сантиметр; и

ii) плотность биомата после сбора и сушки составляет, по меньшей мере, примерно 0,1 грамма на кубический сантиметр.

84. Способ по п. 78, отличающийся тем, что биомат содержит, по меньшей мере, один слой.

85. Способ по п. 78, отличающийся тем, что во время или после стадии сбора биомат имеет прочность на разрыв, по меньшей мере, примерно 3 килопаскаля или, по меньшей мере, примерно 30 грамм-силы на квадратный сантиметр.

86. Способ по п. 85, отличающийся тем, что во время или после стадии сбора биомат имеет прочность на разрыв, по меньшей мере, примерно 100 килопаскалей или, по меньшей мере, примерно 1,020 грамм-силы на квадратный сантиметр.

87. Способ по п. 78, отличающийся тем, что по меньшей мере, одна мембрана содержит, по меньшей мере, один полимер, выбранный из группы, состоящей из полипропиленов, политетрафторэтиленов, поликарбонатов, полиамидов, ацетата целлюлозы, поливинилиденфторидов, смешанных сложных эфиров целлюлозы, полиэфирсульфонов, полиэтиленов и полипирролов.

88. Способ по п. 78, отличающийся тем, что, по меньшей мере, одна мембрана содержит, по меньшей мере, один материал, выбранный из группы, состоящей из полипропиленового полотна, политетрафторэтиленового полотна и нейлонового сетчатого фильтра.

89. Способ по п. 78, отличающийся тем, что мембрана содержит, по меньшей мере, одно из материала из стекловолокна и пористого керамического материала.

90. Способ по п. 78, отличающийся тем, что средний размер пор, по меньшей мере, одной мембраны составляет от примерно 0,2 мкм до примерно 25 мкм.

91. Способ по п. 90, отличающийся тем, что средний размер пор, по меньшей мере, одной мембраны составляет от примерно 5 мкм до примерно 11 мкм.

92. Способ по п. 78, отличающийся тем, что контейнер является закрытым и по существу воздухонепроницаемым, где контейнер включает свободное пространство над газом, в котором растет биомат.

93. Способ по п. 78, отличающийся тем, что биомат самопроизвольно отделяется от, по меньшей мере, одной мембраны.

94. Способ по п. 78, дополнительно включающий сбор биомата, где, когда биомат удаляют с, по меньшей мере, одной мембраны, новый инокулят нитевидных грибов

остаётся, по меньшей мере, на одной мембране.

95. Способ по п. 78, отличающийся тем, что нитевидный гриб принадлежит отряду, выбранному из группы, состоящей из Mucorales, Ustilaginales, Russulales, Polyporales, Agaricales, Pezizales и Hypocreales.

96. Способ по п. 78, отличающийся тем, что нитевидный гриб принадлежит семейству, выбранному из группы, состоящей из Mucoraceae, Ustilaginaceae, Hericiaceae, Polyporaceae, Grifolaceae, Lyophyllaceae, Strophariaceae, Lycoperdaceae, Agaricaceae, Pleurotaceae, *Physalacriaceae*, *Ophiocordycipitaceae*, Tuberaceae, *Morchellaceae*, Sparassidaceae, Nectriaceae, *Bionectriaceae* и Cordycipitaceae.

97. Способ по п. 78, отличающийся тем, что нитевидный гриб выбирают из группы, состоящей из *Rhizopus oligosporus*, *Ustilago esculenta*, *Hericululm erinaceus*, *Polyporous squamosus*, *Grifola fondrosa*, *Hypsizyugus marmoreus*, *Hypsizyugus ulmarius* (*гунцизуг ильмовый*) *Calocybe gambosa*, *Pholiota nameko*, *Calvatia gigantea*, *Agaricus bisporus*, *Stropharia rugosoannulata*, *Hypholoma lateritium*, *Pleurotus eryngii*, *Pleurotus ostreatus* (*вешенка обыкновенная*), *Pleurotus ostreatus var. columbinus* (*устричный гриб*), *Tuber borchii*, *Morchella esculenta*, *Morchella conica*, *Morchella importuna*, *Sparassis crispa* (*спарассис кудрявый*), *Fusarium venenatum*, штамм МК7 (*номер доступа в ATCC PTA-10698*), *Disciotis venosa* и *Cordyceps militaris*, *Trametes versicolor*, *Ganoderma lucidum*, *Flammulina velutipes*, *Lentinula edodes*, *Pleurotus djamor*, *Pleurotus ostreatus* и *Leucoagaricus spp.*

98. Способ по п. 78, отличающийся тем, что сырьё содержит, по меньшей мере, одно из фекалий животного и мочи животного.

99. Способ по п. 98, отличающийся тем, что животным является человек.

100. Способ по п. 78, отличающийся тем, что, по меньшей мере, одной мембраной является одна композитная мембрана, в которой первая поверхность содержит первый материал, и вторая поверхность содержит второй материал.

101. Способ по п. 78, отличающийся тем, что, по меньшей мере, одна мембрана содержит, по меньшей мере, первую мембрану и вторую мембрану, где первой поверхностью является поверхность первой мембраны, и второй поверхностью является поверхность второй мембраны.

102. Способ по п. 101, отличающийся тем, что первая и вторая мембраны находятся в физическом контакте друг с другом.

103. Способ по п. 78, отличающийся тем, что биореактор дополнительно содержит селективную газопроницаемую мембрану, где первый газ, полученный в процессе роста биомата, селективно отделяется в свободное пространство для газа на первой стороне селективной газопроницаемой мембраны.

104. Способ по п. 103, отличающийся тем, что второй газ, образующийся во время роста биомата, селективно отделяется в свободное пространство для газа на второй стороне мембраны.

105. Способ получения пресной воды, включающий:

инокуляцию нитевидного гриба в биореактор, где биореактор содержит:
контейнер; и

сырье для роста нитевидного гриба;

культивирование нитевидного гриба с образованием биомата на, по меньшей мере, одной из поверхности исходного сырья и поверхности мембраны биореактора, где нитевидный гриб производит воду в качестве побочного продукта метаболизма в процессе роста биомата; и

сбор воды, полученную при росте биомата.

106. Способ по п. 105, отличающийся тем, что сырье содержит, по меньшей мере, одно из фекалий животного и мочи животного.

107. Способ по п. 106, отличающийся тем, что животным является человек.

108. Способ по п. 105, дополнительно включающий рециркуляцию собранной воды в биореактор.

109. Способ по п. 105, дополнительно включающий получение сырья, содержащего собранную воду.

110. Способ по п. 109, дополнительно включающий рециркуляцию полученного сырья, содержащего собранную воду, в биореактор.

111. Способ получения газа, включающий:

инокуляцию нитевидного гриба в биореактор, где биореактор содержит:
контейнер; и

сырье для роста нитевидного гриба;

культивирование нитевидного гриба с образованием биомата на, по меньшей мере, одной из поверхности исходного сырья и поверхности мембраны биореактора, где нитевидный гриб производит газ в качестве побочного продукта метаболизма в процессе роста биомата; и

сбор газа, полученного при росте биомата.

112. Способ по п. 111, отличающийся тем, что газ выбран из группы, состоящей из аммиака, видов аммиака, газообразного водорода и летучего сложного эфира.

113. Способ получения биомата нитевидного гриба, включающий:

(а) инокулирование эффективного количества клеток, по меньшей мере, одного нитевидного гриба в первую аликвоту среды для выращивания с получением инокулированной среды для выращивания;

(b) инкубацию инокулированной среды для выращивания в первый раз с получением исходного биомата;

(c) удаление, по меньшей мере, части первой аликвоты среды для выращивания и добавление второй аликвоты среды для выращивания с получением обновленной среды для выращивания; и

(d) повторную инкубацию обновленной среды для выращивания с получением готового биомата,

отличающийся тем, что, по меньшей мере, одно из толщины и плотности сухой

массы готового биомата больше, чем у исходного биомата.

114. Способ по п.113, отличающийся тем, что плотность сухой массы готового биомата составляет, по меньшей мере, примерно 75 граммов на литр.

115. Способ по п.113, отличающийся тем, что биомат содержит более примерно 40% масс. белка и менее примерно 8% масс. РНК.

116. Способ по п. 113, отличающийся тем, что, по меньшей мере, один нитевидный гриб принадлежит отряду, выбранному из группы, состоящей из *Ustilaginales*, *Russulales*, *Polyporales*, *Agaricales*, *Pezizales* и *Hypocreales*.

117. Способ по любому из 113, в котором по меньшей мере, один нитевидный грибе принадлежит семейству, выбранному из группы, состоящей из *Ustilaginaceae*, *Hericiaceae*, *Polyporaceae*, *Grifolaceae*, *Lyophyllaceae*, *Strophariaceae*, *Lycoperdaceae*, *Agaricaceae*, *Pleurotaceae*, *Physalacriaceae*, *Omphalotaceae*, *Tuberaceae*, *Morchellaceae* и *Cordycipitaceae*.

118. Способ по п. 113, отличающийся тем, что по меньшей мере, один нитевидный гриб выбран из группы, состоящей из штамма МК7 (номер доступа в ATCC РТА-10698), *Fusarium venenatum*, *Ustilago esculenta*, *Hericulum erinaceus*, *Polyporous squamosus*, *Grifola fondrosa*, *Hypsizygyus marmoreus*, *Calocybe gambosa*, *Pholiota nameko*, *Calvatia gigantea*, *Agaricus bisporus*, *Stropharia rugosoannulata*, *Hypholoma lateritium*, *Pluerotus eryngii*, *Tuber borchii*, *Morchella esculenta*, *Morchella conica*, *Disciotis venosa*, *Ophiocordyceps sinensis* и *Cordyceps militaris*.

119. Способ по п.113, отличающийся тем, что готовый биомат имеет характеристику, выбранную из группы, состоящей из:

- a. содержит более примерно 45% масс. белкового содержания;
- b. содержит более примерно 50% масс. белкового содержания;
- c. содержит более примерно 55% масс. белкового содержания;
- d. содержит более примерно 60% масс. белкового содержания;
- e. содержит менее примерно 5% масс. РНК содержания;
- f. содержит менее примерно 4% масс. РНК содержания;
- g. содержит менее примерно 3% масс. РНК содержания;
- h. содержит менее примерно 2% масс. РНК содержания; и
- i. комбинации одного из a-d и одного из e-h.

120. Способ по любому из 113, отличающийся тем, что готовый биомат содержит менее чем примерно 10 ч./млн. в микотоксина, выбранного из группы, состоящей из Альфатоксина В1, Альфатоксина В2, Альфатоксина G1, Альфатоксина G2, Фумонизина В1, Фумонизина В2, Фумонизина В3, Охратоксина А, Ниваленола, Деоксиниваленола, Ацетилдеоксиниваленола, Фузаренона, Т-2 токсина, НТ-2 токсина, Неосоланиола, Диацетоксисцирпенола, зеараленона, боверицина, фузарина С, фузариновой кислоты и любых их комбинаций.

121. Способ по п. 113, отличающийся тем, что готовый биомат содержит менее примерно 10 ч./млн. общего содержания микотоксина.

122. Способ по п.113, отличающийся тем, что готовый биомат содержит менее примерно 5 ч./млн. общего содержания микотоксина.

123. Способ по п.113, отличающийся тем, что готовый биомат содержит более примерно 15% масс. аминокислот с разветвленной цепью.

124. Биомат, по меньшей мере, одного нитевидного гриба, имеющий плотность сухой массы, по меньшей мере, примерно 75 грамм на литр.

125. Биомат по п 124, содержащий себя более чем примерно 40% масс. белка и менее чем примерно 8% масс. РНК.

126. Биомат по п 124, отличающийся тем, что, по меньшей мере, один нитевидный гриб принадлежит отряду, выбранному из группы, состоящей из Mucorales, Ustilaginales, Russulales, Polyporales, Agaricales, Pezizales и Hypocreales.

127. Биомат по п 124, отличающийся тем, что, по меньшей мере, один нитевидный гриб принадлежит семейству, выбранному из группы, состоящей из Mucoraceae, Ustilaginaceae, Hericiaceae, Polyporaceae, Grifolaceae, Lyophyllaceae, Strophariaceae, Lycoperdaceae, Agaricaceae, Pleurotaceae, *Physalacriaceae*, *Ophiocordycipitaceae*, Tuberaceae, *Morchellaceae*, Sparassidaceae, Nectriaceae, *Bionectriaceae* и Cordycipitaceae.

128. Биомат по п 124, отличающийся тем, что, по меньшей мере, один нитевидный гриб выбран из группы, состоящей из *Rhizopus oligosporus*, *Ustilago esculenta*, *Hericulum erinaceus*, *Polyporous squamosus*, *Grifola fondrosa*, *Hypsizygos marmoreus*, *Hypsizygos ulmarius* (*зунцизигус ильмовый*) *Calocybe gambosa*, *Pholiota nameko*, *Calvatia gigantea*, *Agaricus bisporus*, *Stropharia rugosoannulata*, *Hypholoma lateritium*, *Pleurotus eryngii*, *Pleurotus ostreatus* (*вешенка обыкновенная*), *Pleurotus ostreatus var. columbinus* (*устричный гриб*), *Tuber borchii*, *Morchella esculenta*, *Morchella conica*, *Morchella importuna*, *Sparassis crispa* (*спарассис кудрявый*), *Fusarium venenatum*, штамм МК7 (*номер доступа в ATCC PTA-10698*), *Disciotis venosa* и *Cordyceps militaris*, *Trametes versicolor*, *Ganoderma lucidum*, *Flammulina velutipes*, *Lentinula edodes*, *Pleurotus djamor*, *Pleurotus ostreatus* и *Leucoagaricus* spp.

129. Биомат по п 124, отличающийся тем, что биомат имеет характеристику, выбранную из группы, состоящей из:

- a. содержит более примерно 45% масс. белкового содержания;
- b. содержит более примерно 50% масс. белкового содержания;
- c. содержит более примерно 55% масс. белкового содержания;
- d. содержит более примерно 60% масс. белкового содержания;
- e. содержит менее примерно 5% масс. РНК содержания;
- f. содержит менее примерно 4% масс. РНК содержания;
- g. содержит менее примерно 3% масс. РНК содержания;
- h. содержит менее примерно 2% масс. РНК содержания; и
- i. комбинации одного из a-d и одного из e-h.

130. Биомат по п 124, содержащий менее чем примерно 10 ч./млн. микотоксина, выбранного из группы, состоящей из Альфатоксина В1, Альфатоксина В2, Альфатоксина

G1, Альфатоксина G2, Фумонизина В1, Фумонизина В2, Фумонизина В3, Охратоксина А, Ниваленола, Деоксиниваленола, Ацетилдеоксиниваленола, Фузаренона, Т-2 токсина, НТ-2 токсина, Неосоланиола, Диацетоксисцирпенола, зеараленона, боверицина, фузарина С, фузариновой кислоты и любых их комбинаций.

131. Биомат по п 124, содержащий менее чем примерно 10 ч./млн. общего содержания микотоксина.

132. Биомат по п 124, содержащий менее чем примерно 5 ч./млн. общего содержания микотоксина.

133. Биомат по п 124, содержащий более чем примерно 15% масс. аминокислот с разветвленной цепью.

134. Биомат по п 124, полученный способом по п 113.

135. Способ получения биомата нитевидного гриба, включающий:

инокуляцию нитевидного гриба в биореактор, где биореактор содержит:
контейнер;

по меньшей мере, один сетчатый каркас, расположенный внутри или на поверхности контейнера, где, по меньшей мере, один сетчатый каркас содержит первую поверхность и вторую поверхность, где одна или обе из первой и второй поверхностей приспособлены для приема на них инокулята нитевидного гриба; и

сырье для роста нитевидного гриба, контактирующее с первой поверхностью сетчатого каркаса.

136. Способ по п.135, отличающийся тем, что сетчатый каркас содержит нейлоновый материал.

137. Культивированный пищевой продукт, содержащий:

частицы нитевидного гриба, принадлежащего отряду, выбранному из группы, состоящей из *Mucorales*, *Ustilaginales*, *Russulales*, *Polyporales*, *Agaricales*, *Pezizales* и *Hypocreales*, отличающийся тем, что нитевидный гриб содержит более чем примерно 40% масс. содержания белка и менее примерно 8% масс. РНК содержания; и
микробную пищевую культуру.

138. Культивируемый пищевой продукт по п.137, отличающийся тем, что микробная пищевая культура содержит молочнокислые бактерии.

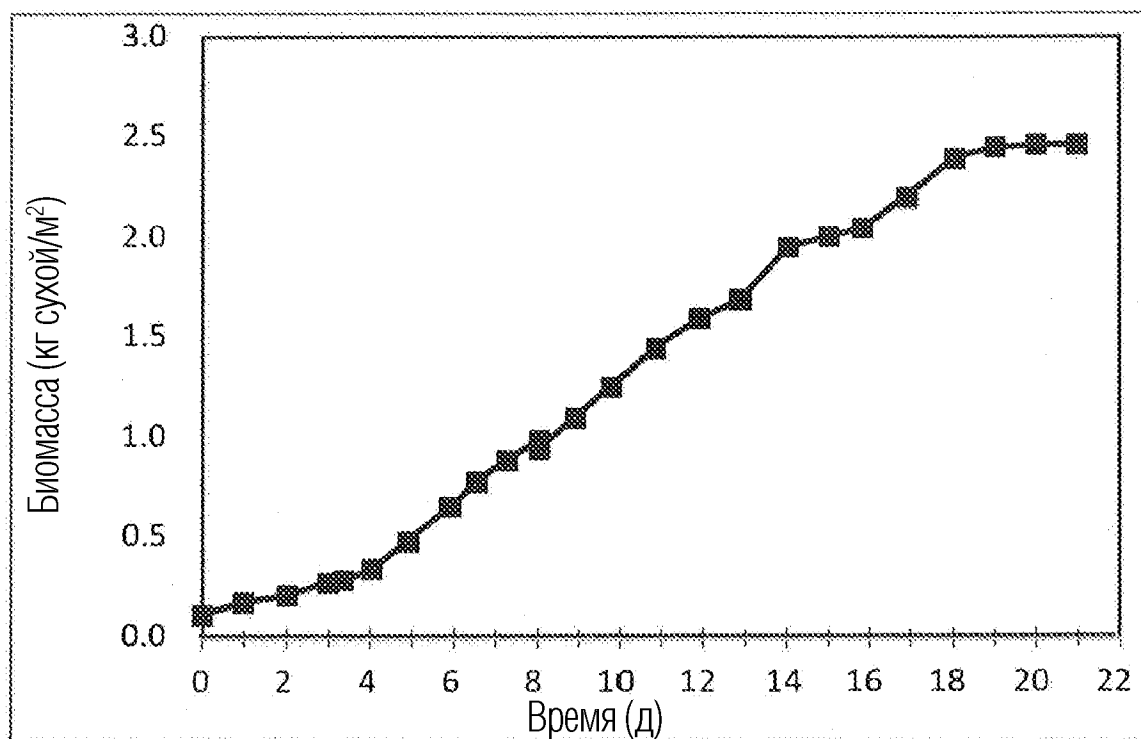
139. Способ приготовления культивированного пищевого продукта, включающий:

инокуляцию частиц нитевидного гриба с микробной пищевой культурой, отличающийся тем, что нитевидный гриб принадлежит отряду, выбранному из группы, состоящей из *Mucorales*, *Ustilaginales*, *Russulales*, *Polyporales*, *Agaricales*, *Pezizales* и *Hypocreales*, отличающийся тем, что нитевидный гриб содержит более чем примерно 40 вес. % содержания белка и менее примерно 8% масс. РНК содержания.

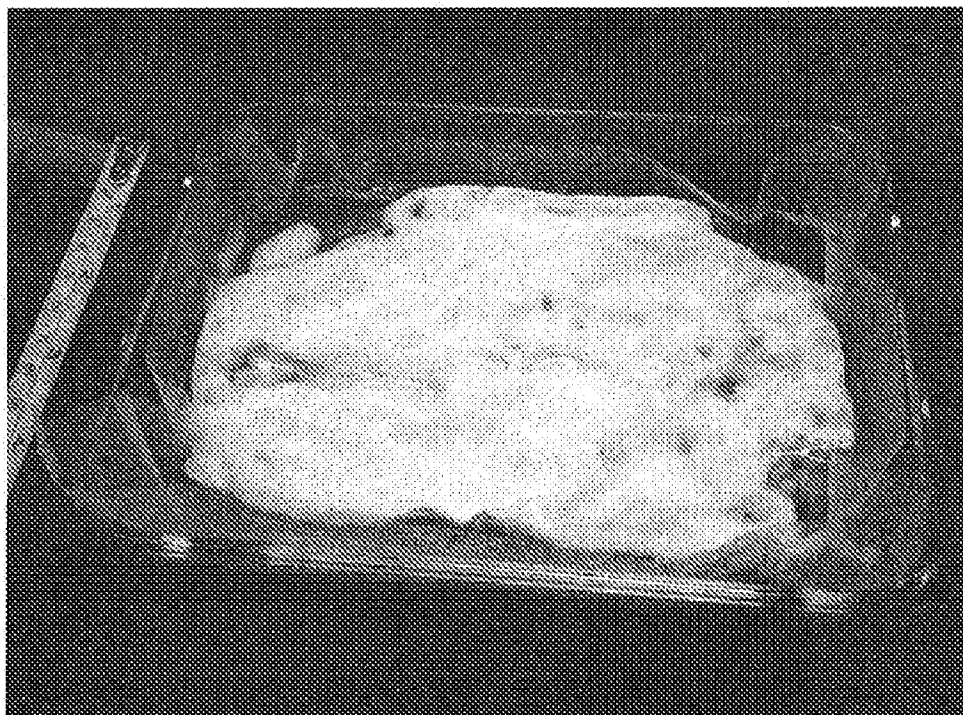
140. Способ по п.139, отличающийся тем, что микробная пищевая культура содержит молочнокислые бактерии.

141. Культивированный пищевой продукт по п.137, полученный способом по п.139.

ФИГ. 1



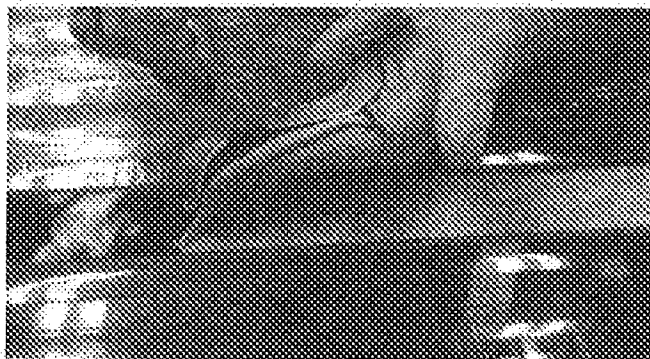
ФИГ. 2



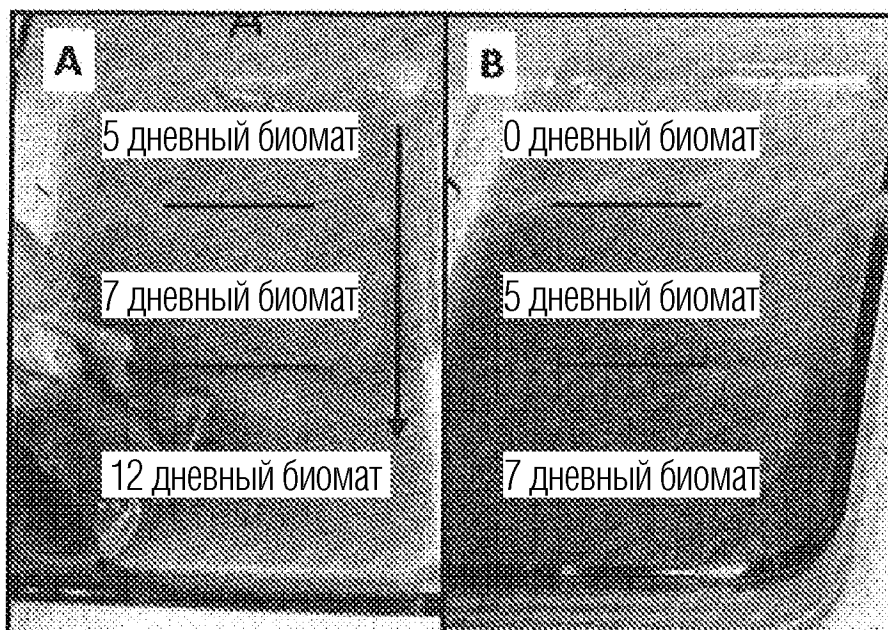
ФИГ. 3



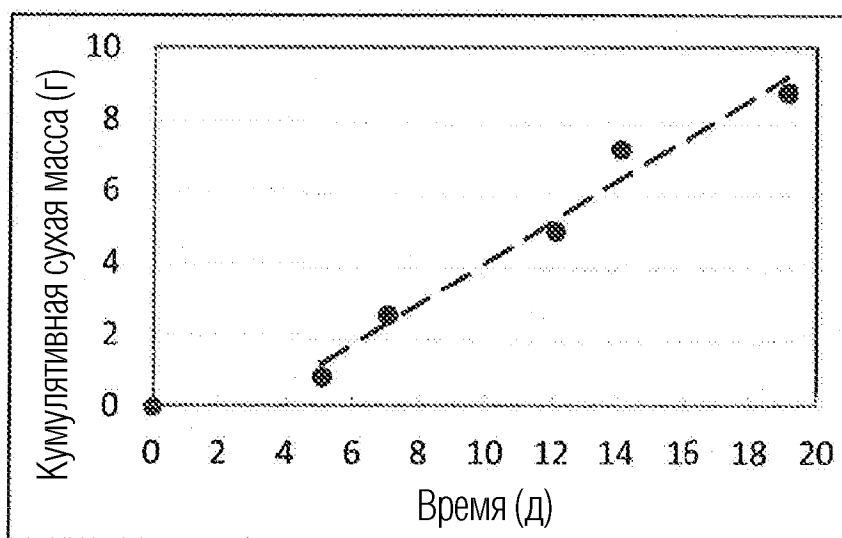
ФИГ. 4



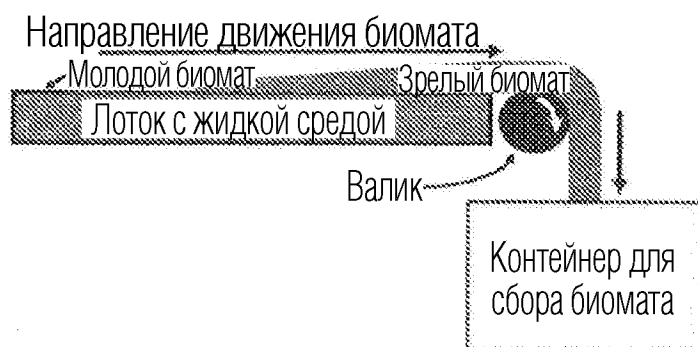
ФИГ. 5



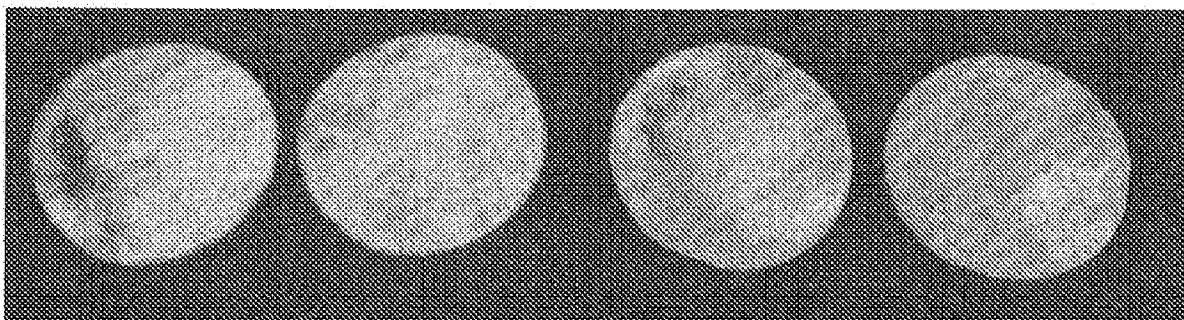
ФИГ. 6



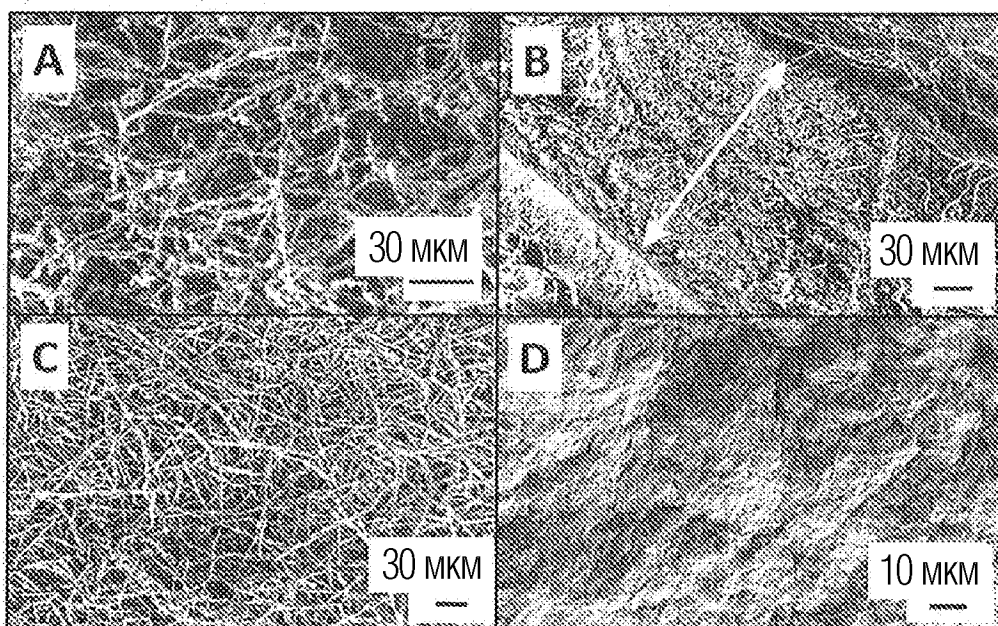
ФИГ. 7



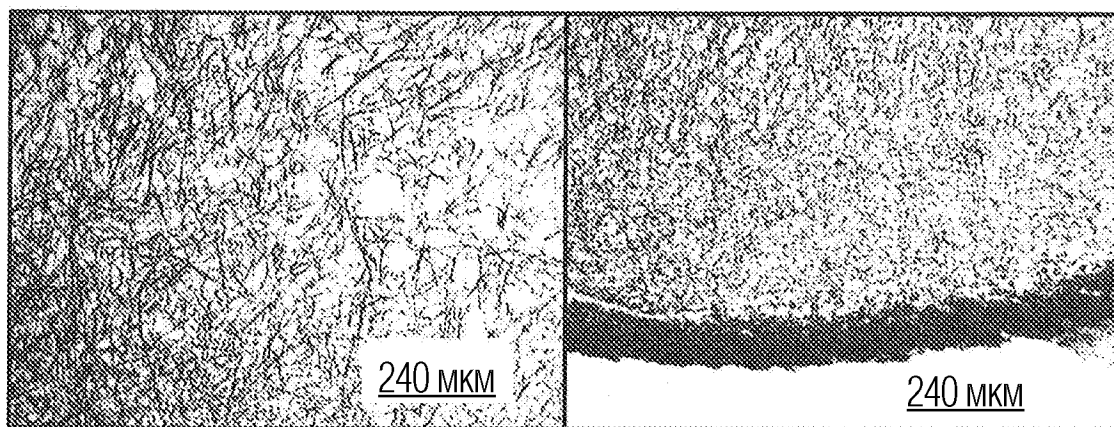
ФИГ. 8



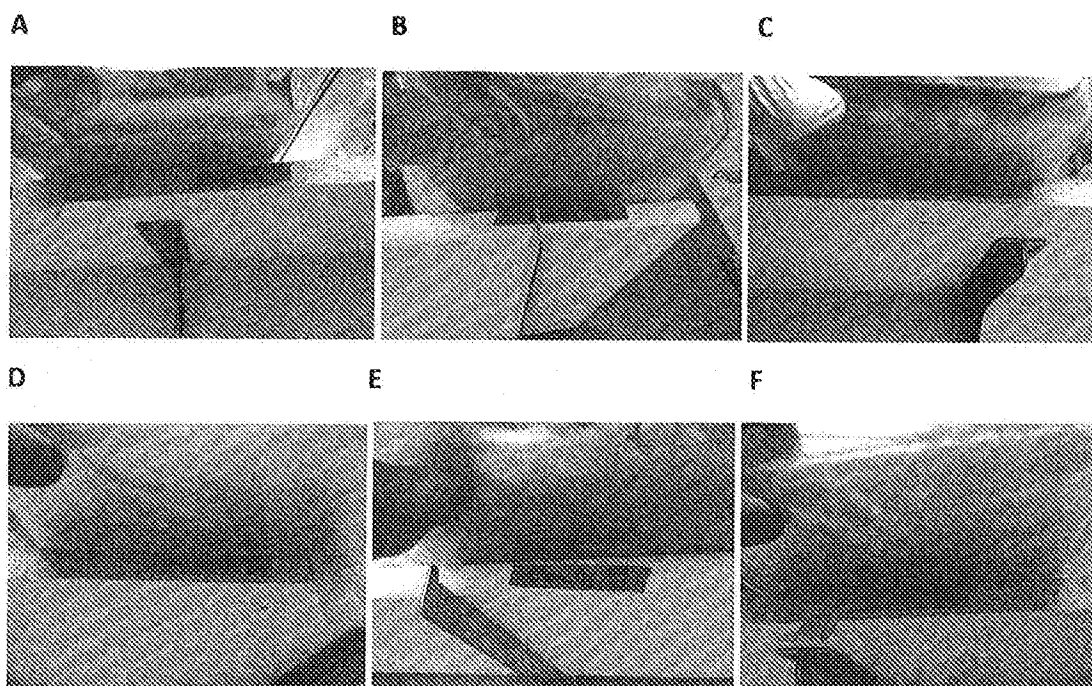
ФИГ. 9



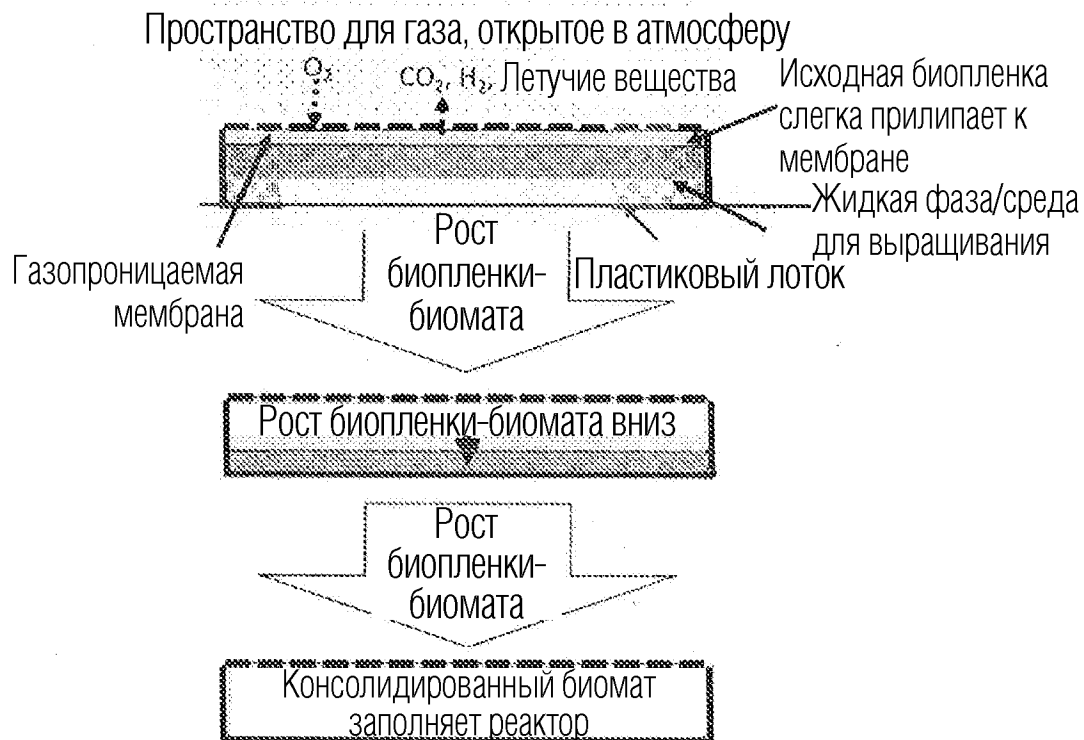
ФИГ. 10



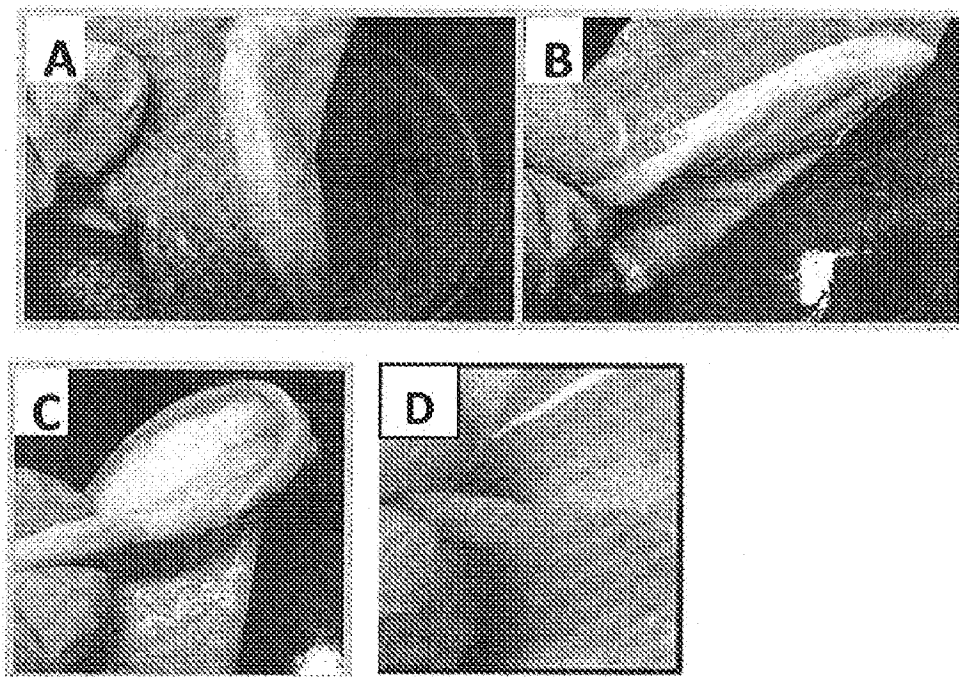
ФИГ. 11



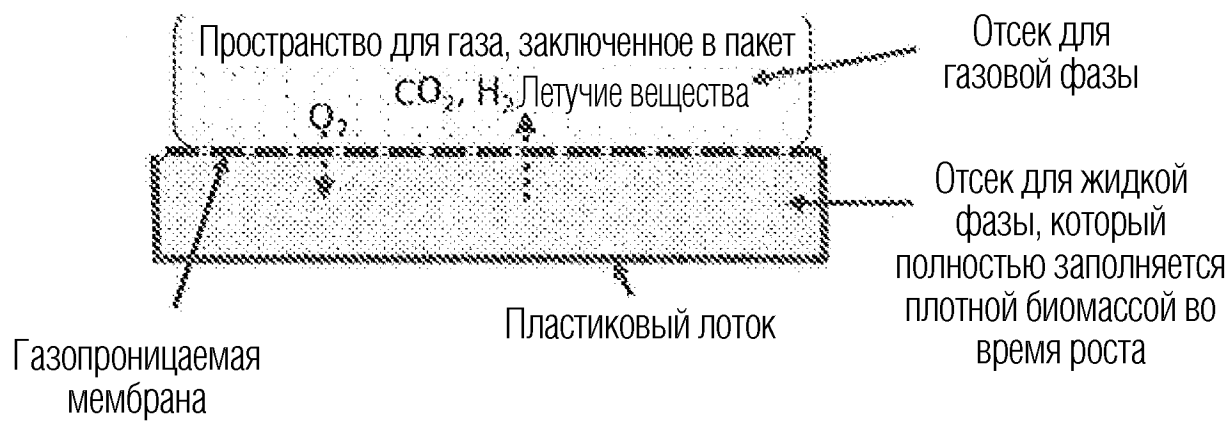
ФИГ. 12



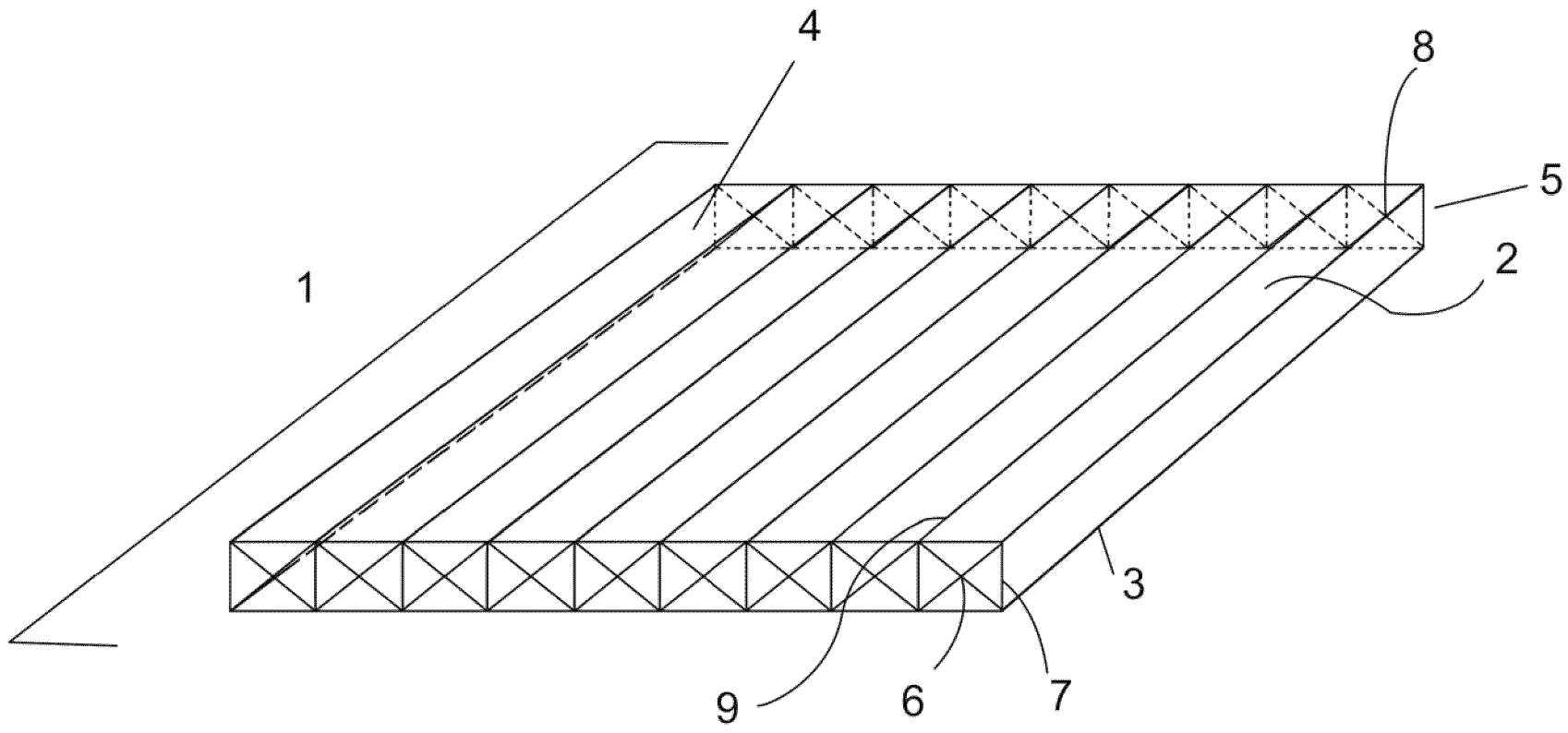
ФИГ. 13



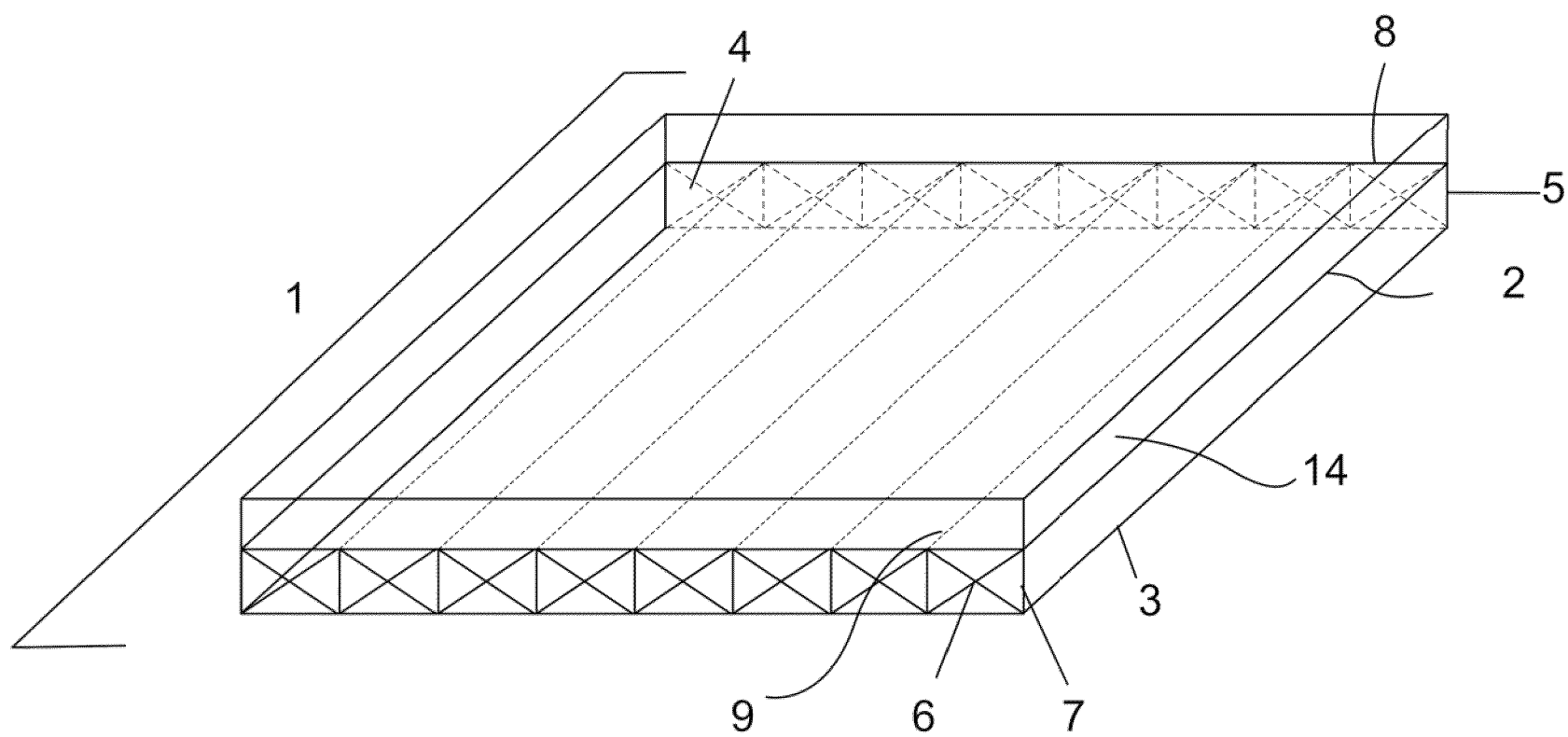
ФИГ. 14

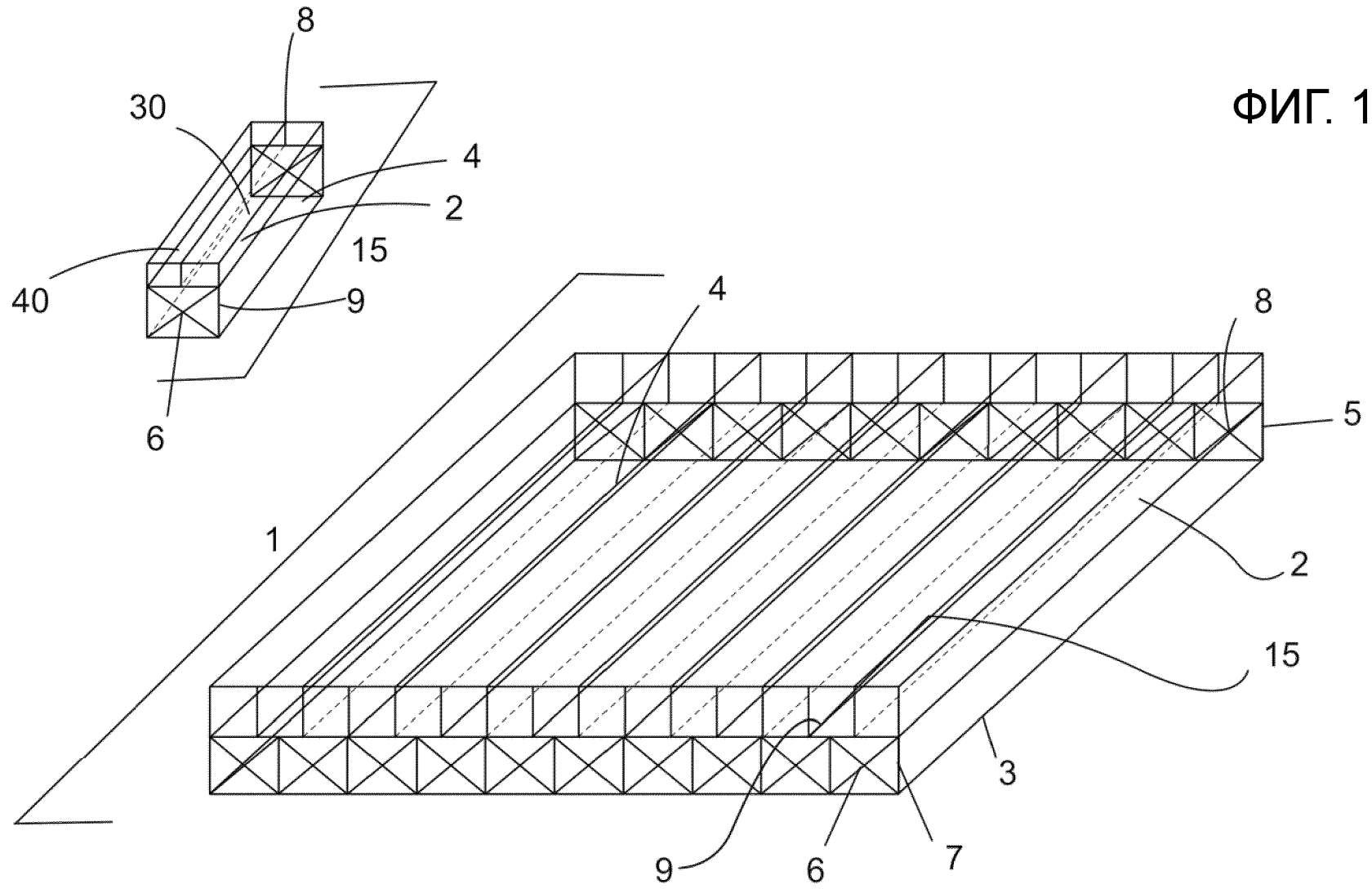


ФИГ. 15



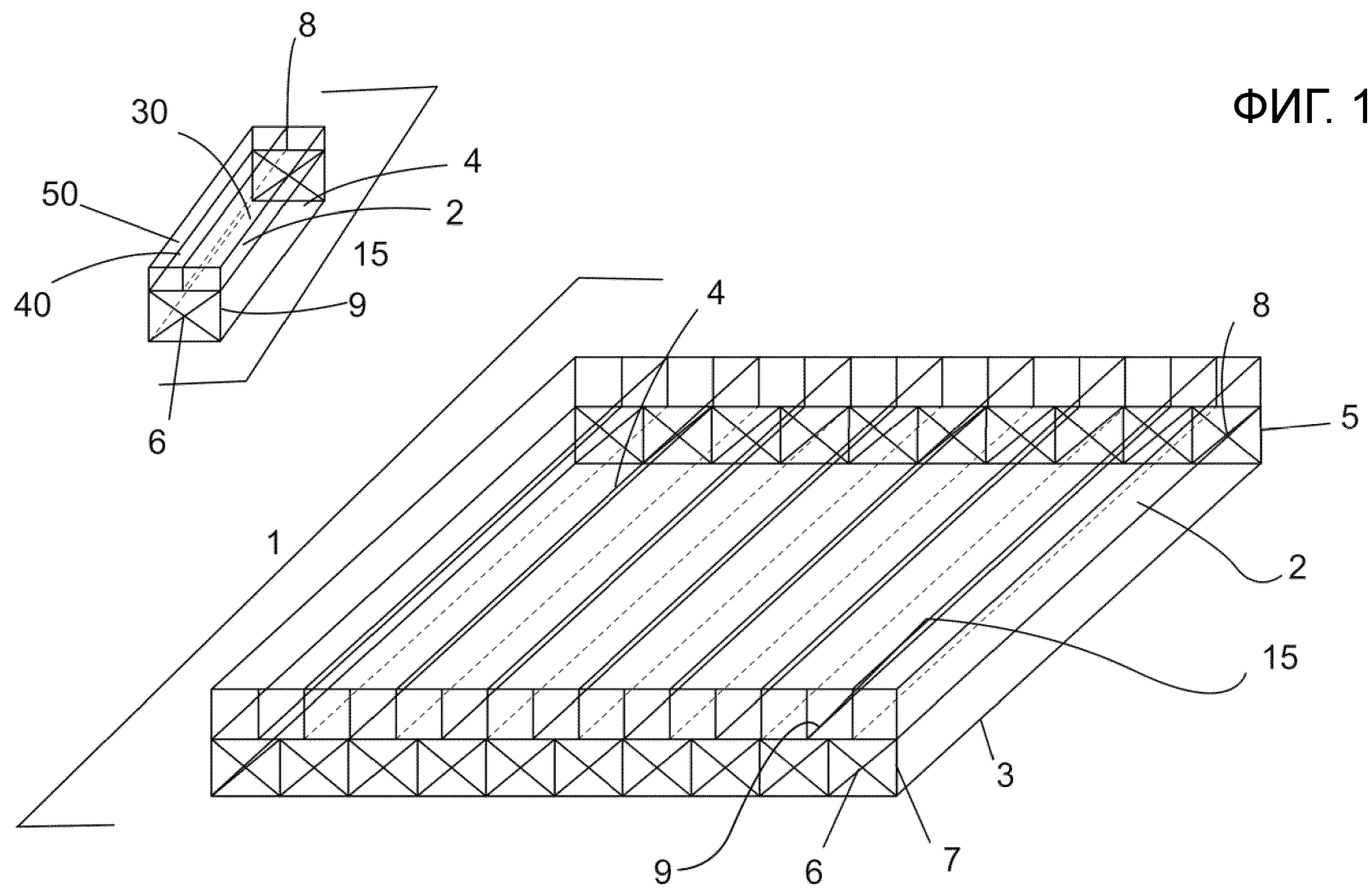
ФИГ. 16



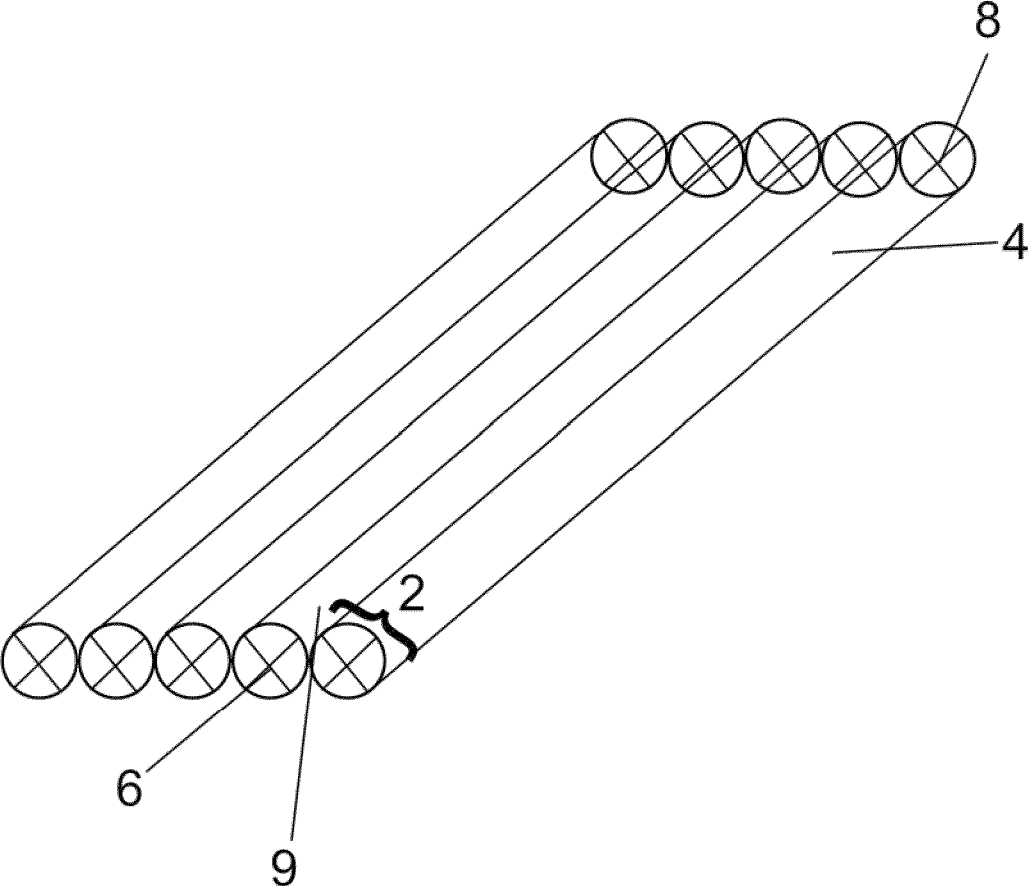




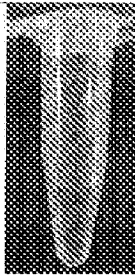

ФИГ. 17

ФИГ. 18

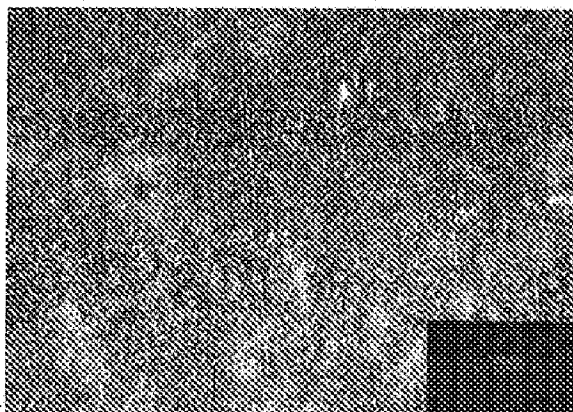


ФИГ. 19

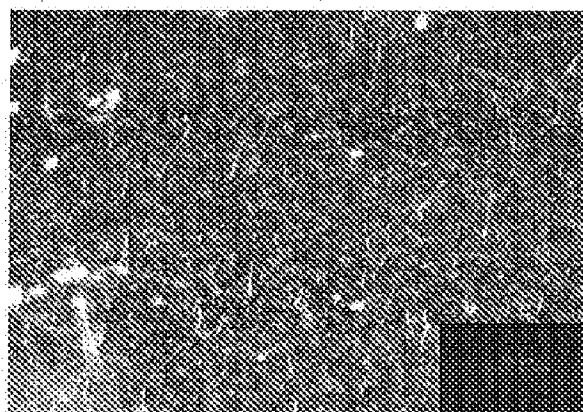


Концентрация образца	H ₂ O	0.00825% (1000X)	0.0825% (100X)	0.825% (10X)
Внешний вид				
Показатель преломления	1.3318 ± 0.002	1.3319 ± 0.002	1.3322 ± 0.001	1.3340 ± 0.002
Плотность	0.9957 г/см ³	0.9957 г/см ³	0.9957 г/см ³	0.9972 г/см ³
Размер частиц		Среднечисленная: 4267 нм PDI: 1 Скорость счета: 251 спз	Среднечисленная: 5590 нм PDI: 1 Скорость счета: 255 спз	Среднечисленная: 5277 нм PDI: 1 Скорость счета: 252 спз

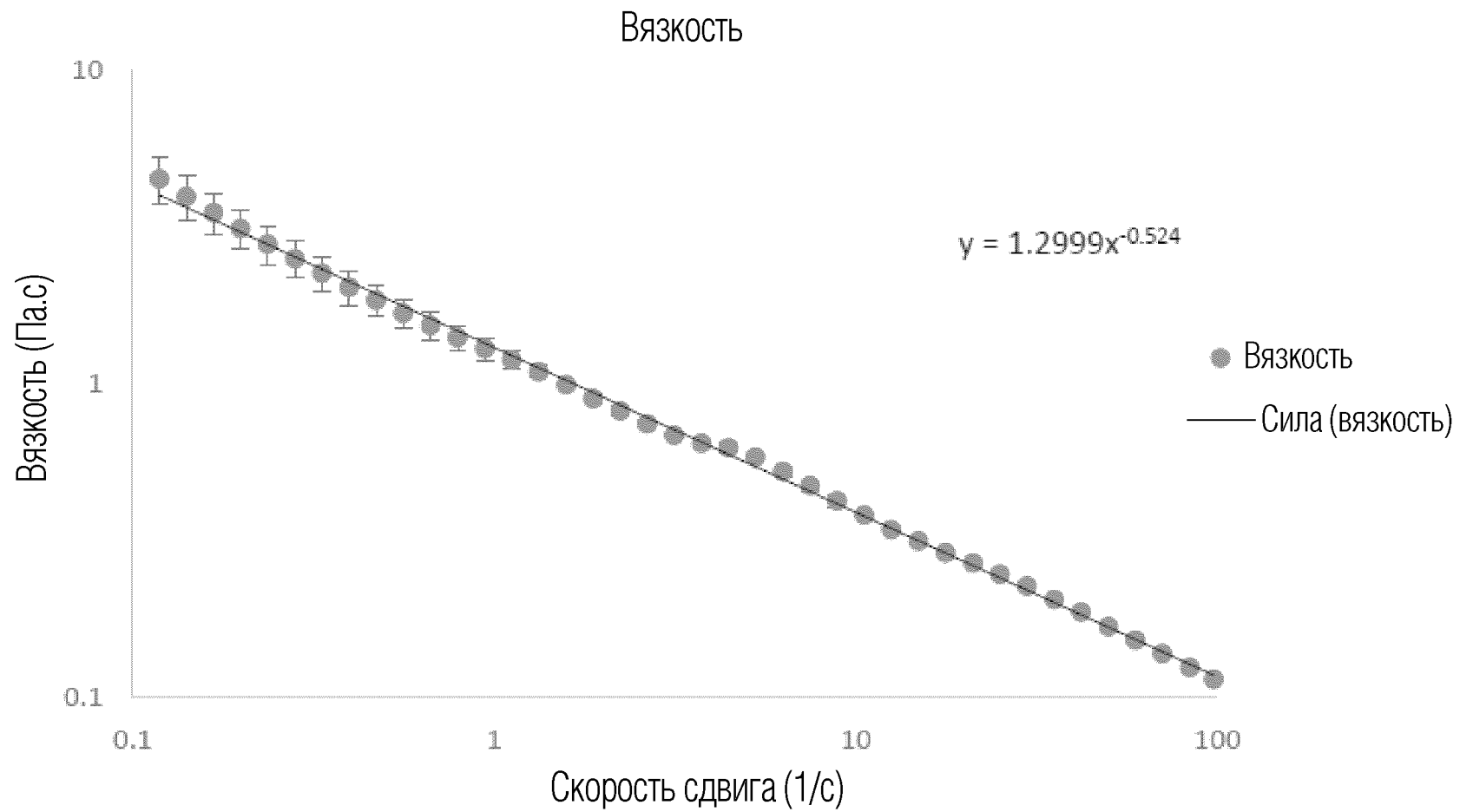
ФИГ. 20



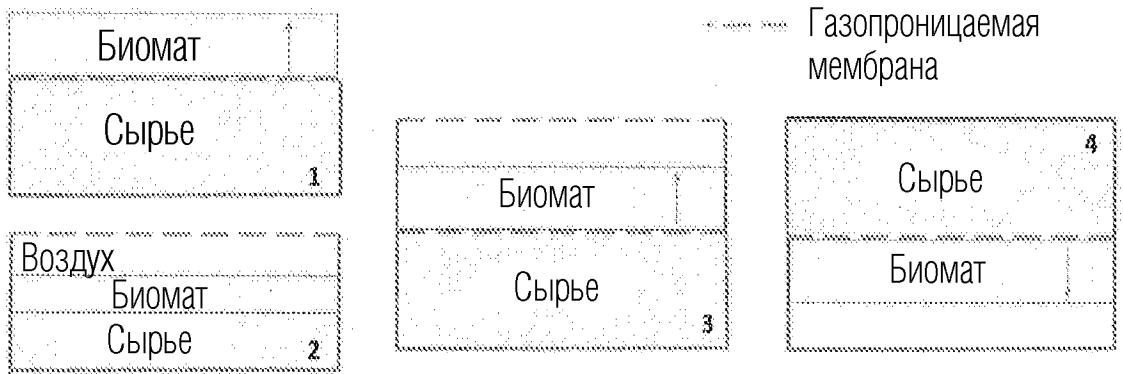
ФИГ. 21А



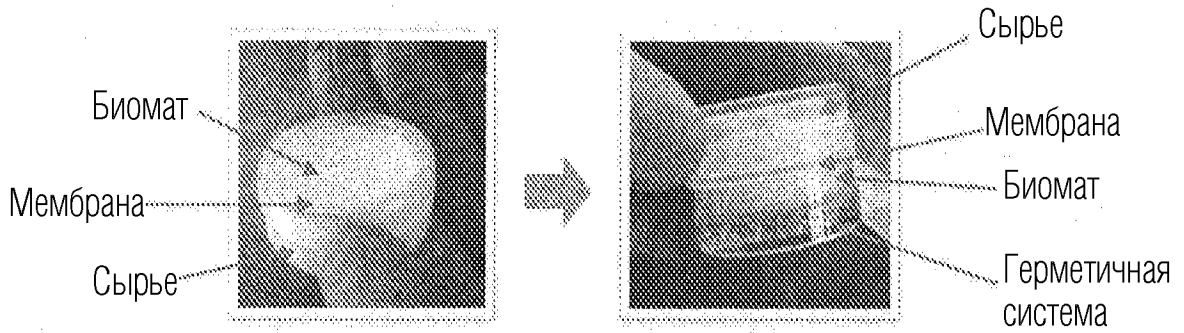
ФИГ. 21В



ФИГ. 22

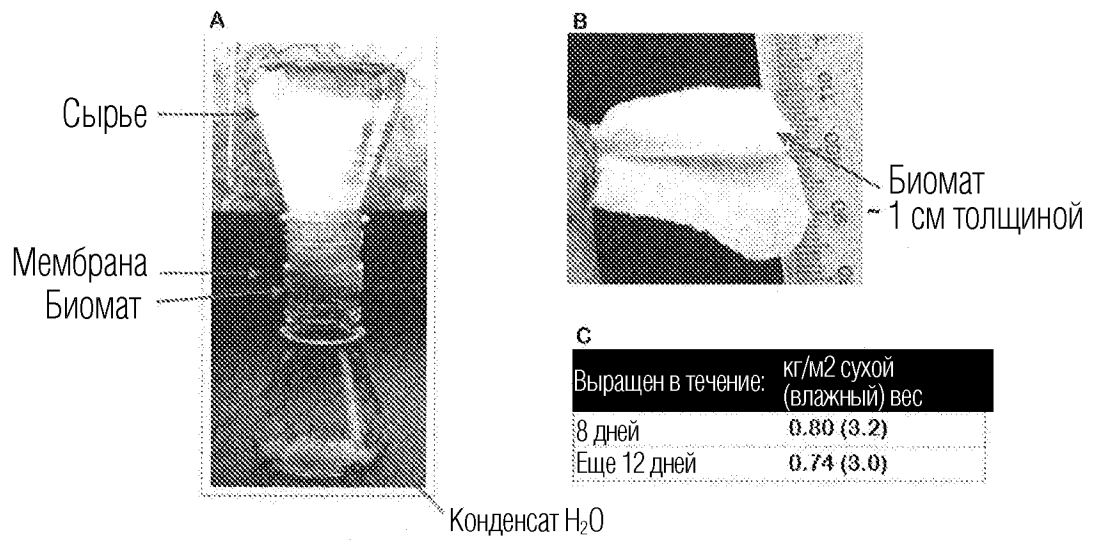


ФИГ. 23

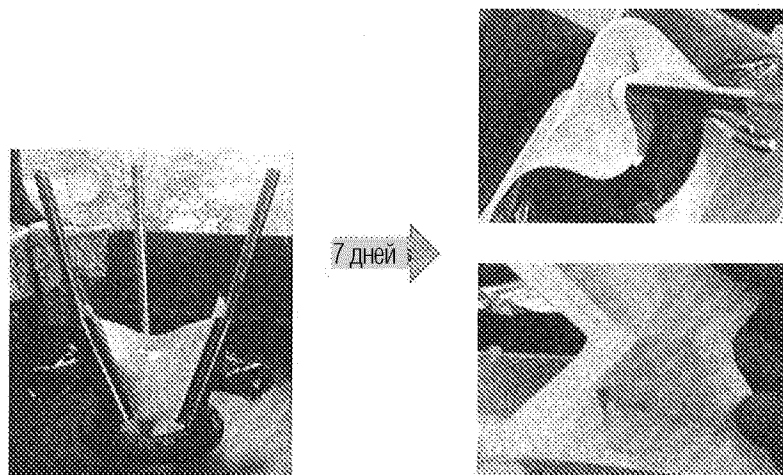


ФИГ. 24А

ФИГ. 24В



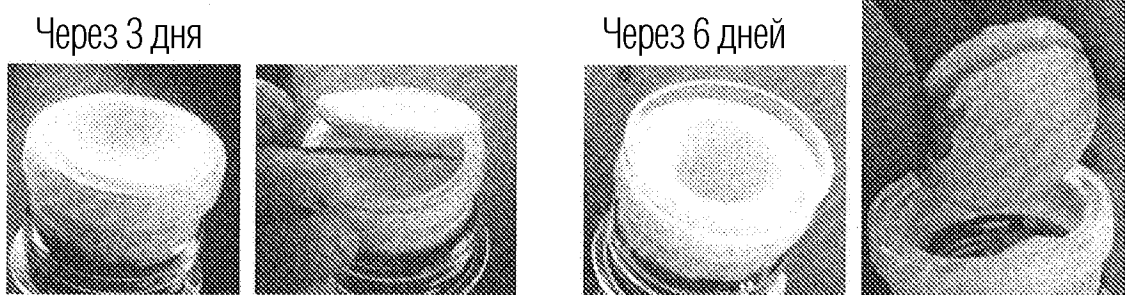
ФИГ. 25



ФИГ. 26

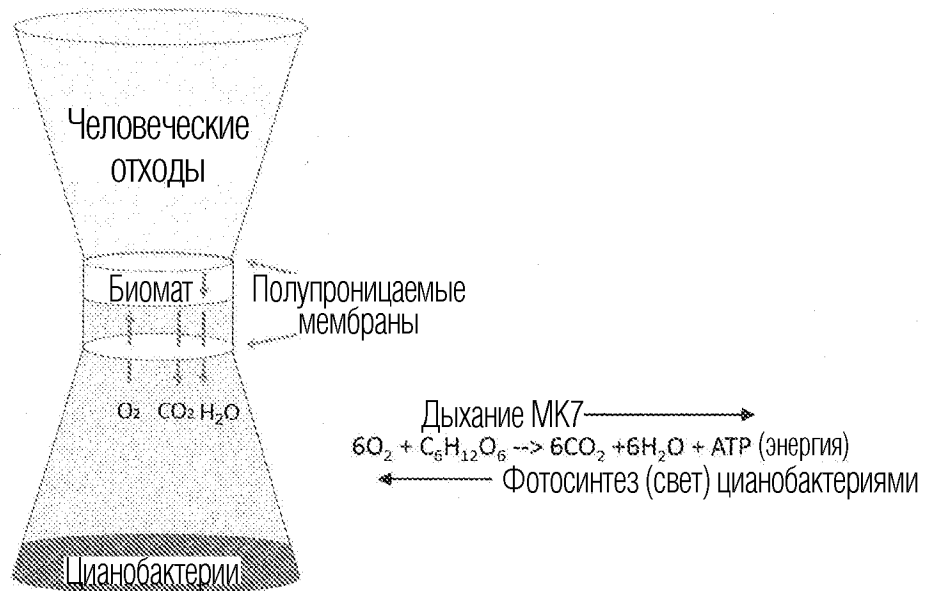


ФИГ. 27

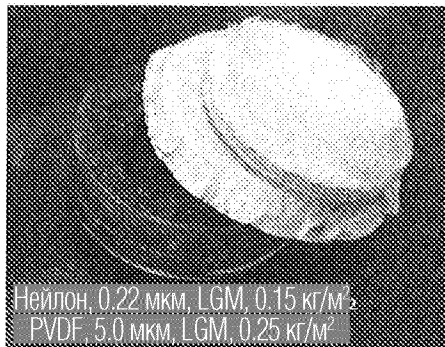


ФИГ. 28А

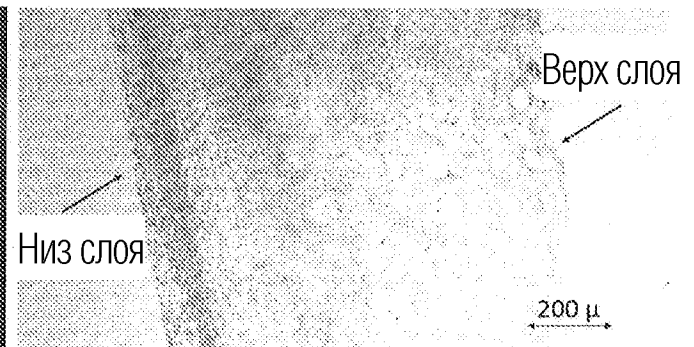
ФИГ. 28В



ФИГ. 29



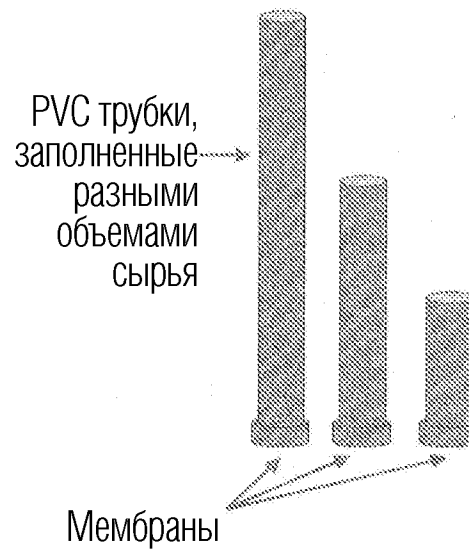
ФИГ. 30А



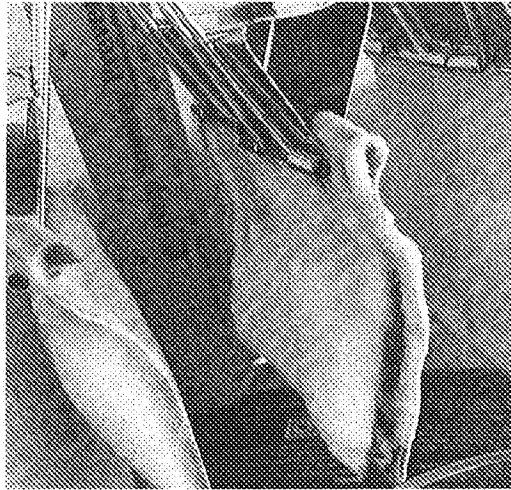
ФИГ. 30В



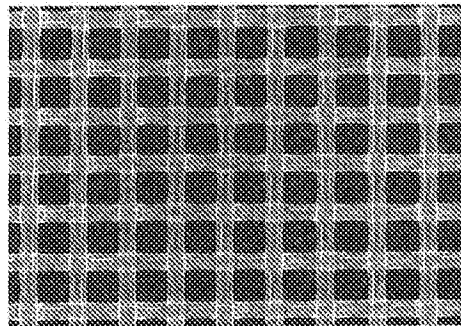
ФИГ. 31А



ФИГ. 31В

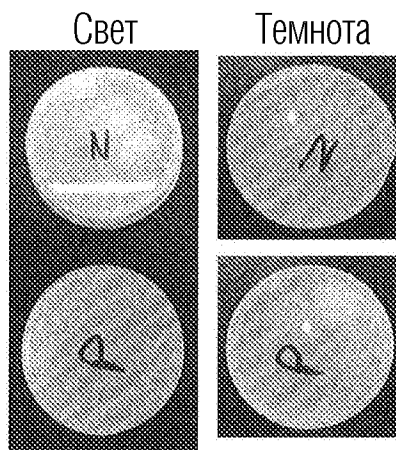


ФИГ. 32



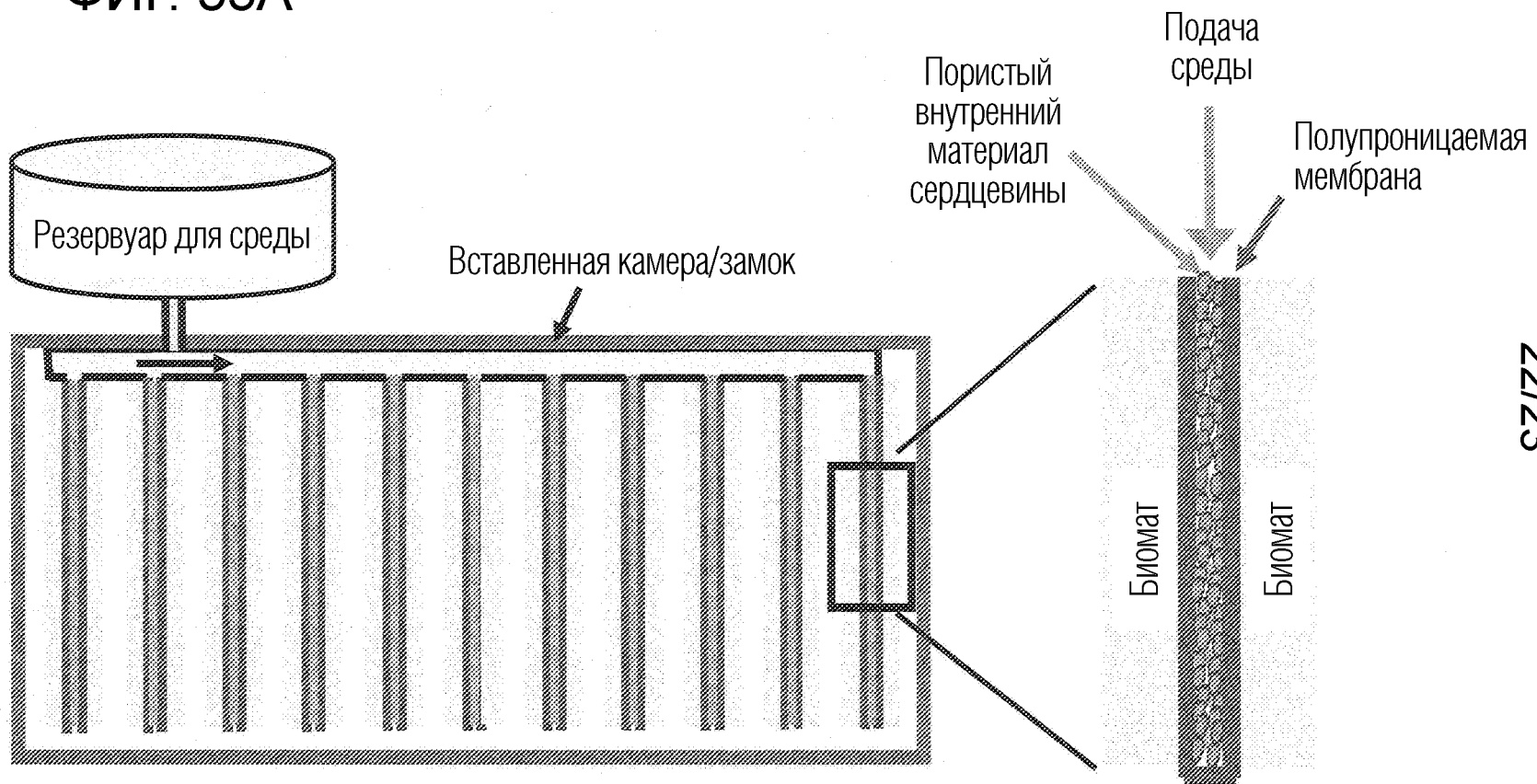
280µm

ФИГ. 33

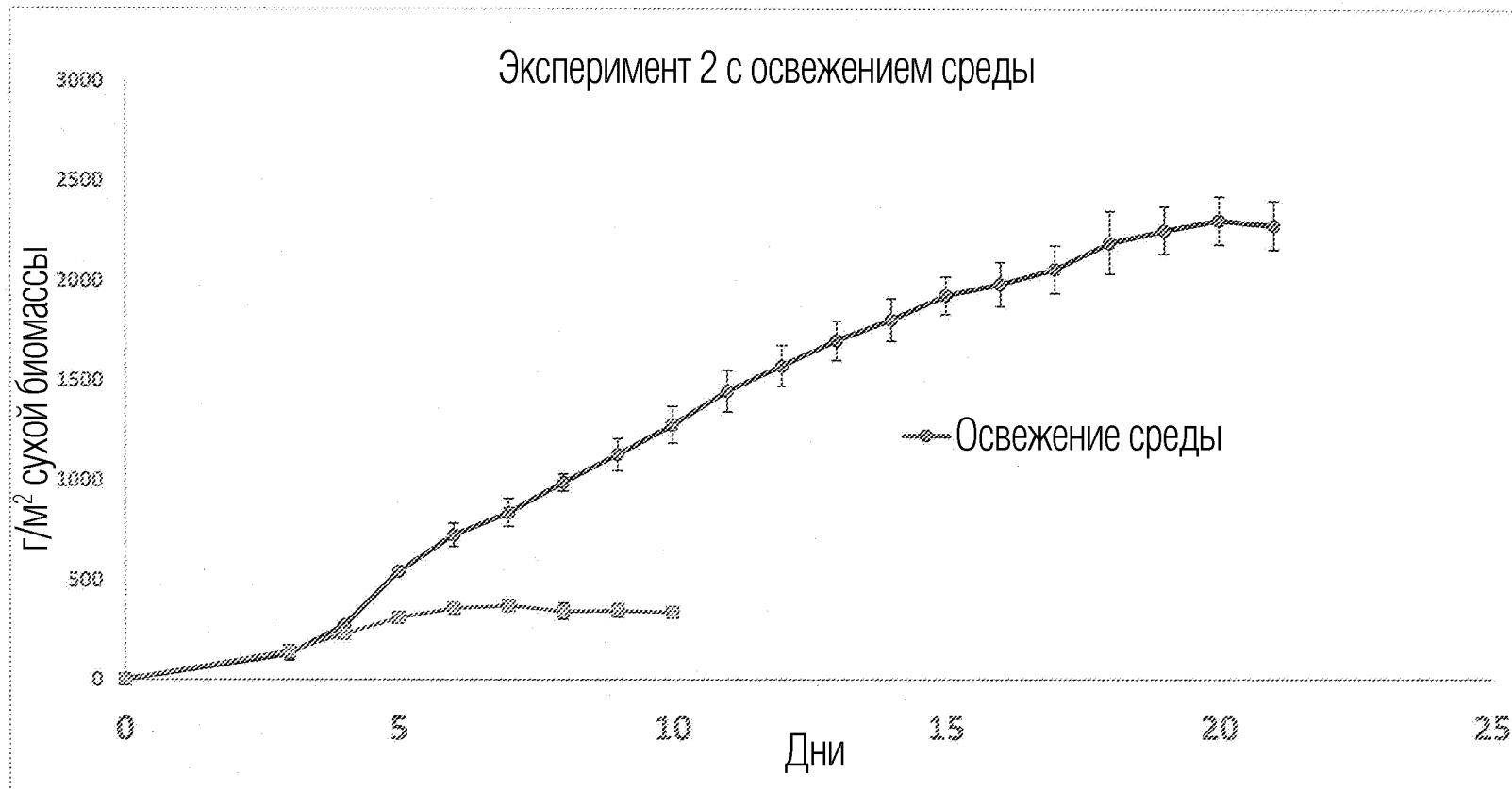


ФИГ. 34

ФИГ. 35А



ФИГ. 35В



ФИГ. 36