

(19)



**Евразийское
патентное
ведомство**

(21) **202291682** (13) **A1**

(12) **ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ЕВРАЗИЙСКОЙ ЗАЯВКЕ**

(43) Дата публикации заявки
2022.11.07

(51) Int. Cl. *A23L 33/10* (2016.01)
A23L 33/135 (2016.01)
C12N 1/04 (2006.01)

(22) Дата подачи заявки
2020.12.30

(54) **ПИЩЕВЫЕ КОМПОЗИЦИИ С ВЫСОКИМ СОДЕРЖАНИЕМ БЕЛКА**

(31) 62/956,110

(32) 2019.12.31

(33) US

(86) PCT/US2020/067555

(87) WO 2021/138482 2021.07.08

(71) Заявитель:
ЭЙР ПРОТЕИН, ИНК. (US)

(72) Изобретатель:

Дайсон Лиза, Рао Крипа, Рид Джон
(US)

(74) Представитель:

Поликарпов А.В., Соколова М.В.,
Путинцев А.И., Черкас Д.А., Игнатъев
А.В., Билык А.В., Дмитриев А.В.,
Бучака С.М., Бельтюкова М.В. (RU)

(57) Предложены пищевые продукты, в которые включены микробные источники белка, такие как одноклеточный белок или продукты гидролиза белка. Предложены искусственные мясные продукты, которые содержат микробный белок вместо животного белка.

202291682
A1

202291682

A1

ПИЩЕВЫЕ КОМПОЗИЦИИ С ВЫСОКИМ СОДЕРЖАНИЕМ БЕЛКА

ПЕРЕКРЕСТНАЯ ССЫЛКА НА РОДСТВЕННЫЕ ЗАЯВКИ

[01] В настоящей заявке заявляется приоритет предварительной заявки США № 62/956,110, поданной 31 декабря 2019 г., которая полностью включена в данный документ посредством ссылки.

ОБЛАСТЬ ТЕХНИКИ

[02] Настоящее изобретение относится к новым композициям на основе белка, которые подходят для потребления человеком и которые полностью имитируют свойства мяса и функционируют в качестве заменителей мяса или искусственных мясных продуктов.

УРОВЕНЬ ТЕХНИКИ

[03] Употребление в пищу мяса животного происхождения является частью повседневной жизни многих людей. Неблагоприятное воздействие мясного рациона на здоровье человека и окружающую среду задокументировано надлежащим образом. Растет потребительский спрос на альтернативные продукты, богатые белком, которые не получены от животных, но имеют сходные текстурные и вкусовые характеристики с мясом животных, без вредных для здоровья компонентов, связанных с мясом, таких как насыщенные жирные кислоты и холестерин, и без вредных для окружающей среды последствий животноводства.

КРАТКОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[04] В соответствии с настоящим изобретением микроорганизм, такой как хемоаутоτροφный микроорганизм, например, кислородно-водородный микроорганизм, выращивают в биореакторе, например, в культуральной среде для выращивания в биореакторе. В некоторых вариантах осуществления в биореактор вводят газовую композицию, содержащую углерод и/или источник энергии для роста хемоаутотрофного микроорганизма. В одном варианте осуществления газовая композиция содержит водород, диоксид углерода и кислород для роста кислородно-водородного микроорганизма. В качестве альтернативы биомасса может быть выращена гетеротрофно с использованием источника органического углерода, такого как молекула сахара, вместо исходного газа. В одном варианте осуществления микроорганизм подразумевает *Cupriavidus necator*, такой как DSM 531 или DSM 541, но не ограничиваясь ими.

[05] Биомасса, выращенная в результате этого процесса, может быть собрана и переработана в искусственный мясной продукт, например, продукт-аналог мяса или другой пищевой продукт. Биомасса может быть первоначально переработана в один или более белковых продуктов, включая одноклеточный белок (например, цельноклеточную биомассу), клеточный лизат, белковый концентрат, белковый изолят, белковый экстракт, белковый гидролизат, свободные аминокислоты, пептиды, олигопептиды или их комбинации. Такая начальная обработка может включать (1) высвобождение органических молекул (включая по меньшей мере часть белков микроорганизма) из клеток микроорганизмов посредством клеточной экскреции, секреции или клеточного лизиса; и (2) обработку высвобожденных органических молекул для разрушения связей между по меньшей мере некоторыми аминокислотами белков для создания пептидов с желаемой длиной цепи (например, полипептидов, олигопептидов (пептидов, содержащих 2-20 аминокислот) или свободных аминокислот). Эти белковые продукты затем могут быть переработаны в пищевой продукт, такой как искусственный мясной продукт.

[06] В соответствии с вариантом осуществления белковый продукт содержит любое количество от около 50% до около 55%, от около 55% до около 60%, от около 60% до около 65%, от около 65% до около 70%, от около 70% до около 75%, от около 75% до около 80%, от около 80% до около 85%, от около 85% до около 90%, от около 90% до около 95%, от около 95% до около 98%, по меньшей мере около 50%, по меньшей мере около 55%, по меньшей мере около 60%, по меньшей мере около 65%, по меньшей мере около 70%, по меньшей мере около 75%, по меньшей мере около 80%, по меньшей мере около 85%, по меньшей мере около 90%, по меньшей мере около 95% или по меньшей мере около 98% свободных аминокислот. В соответствии с вариантом осуществления белковый продукт содержит любое количество от около 50% до около 55%, от около 55% до около 60%, от около 60% до около 65%, от около 65% до около 70%, от около 70% до около 75%, от около 75% до около 80%, от около 80% до около 85%, от около 85% до около 90%, от около 90% до около 95%, от около 95% до около 98%, по меньшей мере около 50%, по меньшей мере около 55%, по меньшей мере около 60%, по меньшей мере около 65%, по меньшей мере около 70%, по меньшей мере около 75%, по меньшей мере около 80%, по меньшей мере около 85%, по меньшей мере около 90%, по меньшей мере около 95% или по меньшей мере около 98% олигопептидов. В соответствии с вариантом осуществления белковый продукт содержит любое количество от около 50% до около 55%, от около 55% до около 60%, от около 60% до около 65%, от около 65% до около 70%, от около 70% до около 75%, от около 75% до около 80%, от около 80% до около 85%, от около 85% до около 90%, от около 90% до около 95%, от около 95% до около 98%, по меньшей мере около 50%, по меньшей мере

меньшей мере около 55%, по меньшей мере около 60%, по меньшей мере около 65%, по меньшей мере около 70%, по меньшей мере около 75%, по меньшей мере около 80%, по меньшей мере около 85%, по меньшей мере около 90%, по меньшей мере около 95% или по меньшей мере около 98% комбинации свободных аминокислот, олигопептидов и полипептидов, содержащих от 20 до 50 аминокислот или от 21 до 50 аминокислот, где соотношение свободных аминокислот и олигопептидов и полипептидов, содержащих от 20 до 50 аминокислот или от 21 до 50 аминокислот, составляет около 1:1:1, или от около 0 до около 3:от около 0 до около 3:от около 0 до около 3, или от около 3 до около 6:от около 0 до около 3:от около 0 до около 3, или от около 0 до около 3:от около 3 до около 6:от около 0 до около 3, или от около 0 до около 3:от около 0 до около 3:от около 3 до около 6, или от около 3 до около 6:от около 3 до около 6:от около 0 до около 3, или от около 0 до около 3:от около 3 до около 6:от около 3 до около 6, или от около 3 до около 6:от около 0 до около 3:от около 3 до около 6, или от около 6 до около 9:от около 0 до около 3:от около 0 до около 3, или от около 0 до около 3:от около 6 до около 9:от около 0 до около 3, или от около 0 до около 3:от около 0 до около 3:от около 6 до около 9, или от около 6 до около 9:от около 6 до около 9:от около 0 до около 3:от около 6 до около 9. В соответствии с вариантом осуществления белковый продукт не содержит или практически не содержит цельных клеток.

[07] В соответствии с вариантом осуществления белковый продукт комбинируют с другими съедобными ингредиентами с образованием пищевого продукта, включая искусственный мясной продукт, который имитирует одну или более физических характеристик и/или функциональных свойств мяса, таких как текстура, вкус, аромат и/или внешний вид. Такие другие ингредиенты могут быть выбраны из яблочного сидра, яблочного уксуса, разрыхлителя, пищевой соды, бобов, говядины, свекольного сока, свекольного порошка, черного перца, коричневого сахара, сливочного масла, масла канолы, карамели, морковной клетчатки, моркови, кешью, сыра, курицы, шоколада, цитрусовых, экстракта цитрусовых, кокосового масла, сгущенного молока, молочных продуктов, яйца, заменителя яиц, рыбы, муки, нута, чесночного порошка, меда, жидкого дыма, кленового сиропа, маргарина, глутамата натрия, горчичного порошка, растительного масла, оливкового масла, лукового порошка, паприки, свинины, картофеля, картофельного крахмала, рисовой муки, соли, бензоата натрия, сои (белка и/или масла), соевого соуса, специй, спирулины, сахара, подсолнечного масла, томатного сока, томатного порошка, томатного соуса, помидоров, куркумы, ванили, уксуса, витаминов и минералов, грецких орехов, воды, пшеницы,

пшеничной муки, пшеничного глютена, ксантановой камеди, дрожжей и/или дрожжевого экстракта.

[08] В соответствии с вариантом осуществления белковый продукт содержит по меньшей мере около 10%, по меньшей мере около 20%, по меньшей мере около 25%, по меньшей мере около 30%, по меньшей мере около 35%, по меньшей мере около 40%, по меньшей мере около 45%, по меньшей мере около 50%, по меньшей мере около 55%, по меньшей мере около 60%, по меньшей мере около 65%, по меньшей мере около 70%, по меньшей мере около 75%, по меньшей мере около 80% или по меньшей мере около 85% искусственного мясного продукта в пересчете на сухое вещество, например, по массе в пересчете на сухое вещество.

ПОДРОБНОЕ ОПИСАНИЕ СУЩНОСТИ ИЗОБРЕТЕНИЯ

[09] Изобретение относится к пищевым продуктам, таким как искусственные мясные продукты, которые включают белковые продукты, полученные из микроорганизмов.

[10] Если не указано иное в данном документе, все употребляемые в данном документе технические и научные термины имеют общепринятые значения, понятные любому специалисту в данной области техники, к которой имеет отношение настоящее изобретение. Singleton, et al., *Dictionary of Microbiology and Molecular Biology*, second ed., John Wiley and Sons, New York (1994), and Hale & Markham, *The Harper Collins Dictionary of Biology*, Harper Perennial, NY (1991) предоставляют специалисту общий словарь многих терминов, используемых в этом изобретении. Любые способы и материалы, подобные или эквивалентные тем, что описаны в данном документе, могут использоваться на практике или при тестировании способов, систем и композиций, описанных в данном документе.

[11] На практике в настоящем изобретении будут использоваться, если не указано иное, обычные методы молекулярной биологии (включая рекомбинантные методы), микробиологии, клеточной биологии и биохимии, которые находятся в пределах компетенции специалистов в данной области техники. Такие методы полностью описаны в литературе, например, *Molecular Cloning: A Laboratory Manual*, second edition (Sambrook et al., 1989); *Oligonucleotide Synthesis* (M. J. Gait, ed., 1984); *Current Protocols in Molecular Biology* (F. M. Ausubel et al., eds., 1994); *PCR: The Polymerase Chain Reaction* (Mullis et al., eds., 1994); и *Gene Transfer and Expression: A Laboratory Manual* (Kriegler, 1990).

[12] Предусмотренные в данном документе числовые диапазоны включают числа, определяющие диапазон.

[13] Если не указано иное, нуклеиновые кислоты записываются слева направо в ориентации от 5' к 3'; аминокислотные последовательности записываются слева направо в аминокислотной ориентации соответственно.

Определения

[14] Единственное число включает ссылки во множественном числе, если контекст явно не указывает, таким образом, термины в единственном числе, используемые в данном документе в описании и в формуле изобретения, если явно указано обратное, следует понимать как означающее «по меньшей мере один».

[15] Термин «около», используемый в данном документе применительно к измеримому значению, такому как количество, временная продолжительность и т.п., означает, что он охватывает отклонения в $\pm 5\%$, $\pm 1\%$ или $\pm 0,1\%$ от указанного значения, поскольку такие варианты подходят для осуществления раскрытых способов или в связи с раскрытой композицией.

[16] «Ацетоген» относится к микроорганизму, который вырабатывает ацетат и/или другие короткоцепочечные органические кислоты с длиной цепи до C4 в качестве продукта анаэробного дыхания.

[17] «Ацидофил» относится к типу экстремофилов, которые процветают в очень кислых условиях (обычно при pH 2,0 или ниже).

[18] Термин «аминокислота» относится к молекуле, содержащей как аминогруппу, так и карбоксильную группу, которые связаны с углеродом, который обозначен альфа-углеродом. Подходящие аминокислоты включают, без ограничения, как D-, так и L-изомеры природных аминокислот, а также неприродные аминокислоты, полученные органическим синтезом или другими метаболическими путями. В некоторых вариантах осуществления одна «аминокислота» может иметь несколько боковых цепей, которые доступны на расширенном алифатическом или ароматическом каркасе остова. Если в контексте конкретно не указано иное, термин «аминокислота», используемый в данном документе, включает аналоги аминокислот.

[19] Фразу «и/или», употребляемую в данном документе в описании и в формуле изобретения, следует понимать как означающую «любой из или оба вместе» для элементов, соединенных таким образом, *т. е.* элементов, которые в одних случаях присутствуют вместе, а в других - раздельно. Необязательно могут присутствовать другие элементы, отличные от элементов, конкретно указанных во фразе «и/или», независимо от того, связаны они или не связаны с этими элементами, конкретно указанными, если явно не указано иное. Таким образом, в качестве неограничивающего примера ссылка на «А и/или

В» при использовании в сочетании с неограничивающей формулировкой, такой как «содержащий», может относиться в одном варианте осуществления к А без В (необязательно включая элементы, отличные от В); в другом варианте осуществления к В без А (необязательно включая элементы, отличные от А); в еще одном варианте осуществления как к А, так и к В (необязательно включая другие элементы); и т. п.

[20] Термин «искусственное мясо», или «заменитель мяса», или «имитация мяса», или «аналог мяса», используемый в данном документе, относится к пищевому продукту, который не получен от животного или содержит значительное количество белка неживотного источника, но имеет структуру, текстуру, эстетические качества и/или другие свойства, сравнимые или аналогичные свойствам мяса животных, включая домашний скот (например, говядину, свинину), дичь (например, оленину), домашнюю птицу (например, курицу, индейку, утку) и/или заменители/аналоги рыбы или морепродуктов. Термин относится к сырым, кулинарным и приготовленным мясоподобным пищевым продуктам.

[21] Термин «биомасса» относится к материалу, полученному путем роста и/или размножения клеток. Биомасса может содержать клетки и/или внутриклеточное содержимое, а также внеклеточный материал, включая, но не ограничиваясь ими, соединения, секретируемые клеткой.

[22] Термин «биореактор» или «ферментер» относится к закрытому или частично закрытому сосуду, в котором выращивают и поддерживают клетки. Клетки могут, но не обязательно, содержаться в жидкой суспензии. В некоторых вариантах осуществления вместо содержания в жидкой суспензии клетки можно альтернативно выращивать и/или поддерживать в контакте с другим нежидким субстратом, на нем или внутри него, включая, помимо прочего, твердый материал для поддержки роста.

[23] Термин процесс, реакция или путь «фиксации углерода» относится к ферментативным реакциям или метаболическим путям, которые превращают формы углерода, которые являются газообразными в условиях окружающей среды, включая, помимо прочего, CO_2 , CO и CH_4 , в жидкие или твердые биохимические вещества на основе углерода в условиях окружающей среды, или которые растворены или находятся в виде суспензии в водном растворе.

[24] «Источник углерода» относится к типам молекул, из которых микроорганизм получает углерод, необходимый для органического биосинтеза.

[25] «Карбоксидотрофный» относится к микроорганизмам, которые могут переносить или окислять монооксид углерода. В предпочтительных вариантах осуществления карбоксидотрофный микроорганизм может использовать CO в качестве источника

углерода и/или в качестве источника восстанавливающих электронов для биосинтеза и/или дыхания.

[26] «Хемоаутоτροφный» относится к организмам, которые получают энергию путем окисления химических доноров электронов химическими акцепторами электронов и синтезируют все органические соединения, необходимые организму для жизни и роста из диоксида углерода.

[27] В формуле изобретения, а также в описании, все переходные фразы, такие как «содержащий», «включающий», «несущий», «имеющий», «содержащий», «вмещающий», «удерживающий» и т. п. следует понимать как неограниченные, *т. е.*, что означает, помимо прочего, включение. Только переходные фразы «состоящий из» и «состоящий по сути из» должны быть соответственно закрытыми или полужакрытыми переходными фразами.

[28] «Объединение» в данном документе относится к двум или более разным видам или штаммам микроорганизмов и/или многоклеточных организмов, которые выращены вместе, например, выращены в совместной культуре в одной и той же питательной среде.

[29] Термин «культивирование» относится к выращиванию популяции клеток, например, микробных клеток, в подходящих для роста в жидкой или твердой среде.

[30] Термин «полученный из» включает термины «происходящий из», «полученный из», «получаемый из», «выделенный из» и «созданный из» и обычно указывает, что один конкретный материал находит свое происхождение в другом конкретном материале или обладает свойствами, которые можно описать со ссылкой на другой указанный материал.

[31] «Источник энергии» относится либо к донору электронов, который окисляется кислородом при аэробном дыхании, либо к комбинации окисляемого донора электронов и акцептора электронов, который восстанавливается при анаэробном дыхании.

[32] «Экстремофил» относится к микроорганизму, который процветает в физически или геохимически экстремальных условиях (например, при высокой или низкой температуре, pH или высокой солености) по сравнению с условиями на поверхности Земли или океана, которые обычно переносятся большинством обнаруженных форм жизни на поверхности земли или вблизи нее.

[33] Термин «газификация» относится, как правило, к высокотемпературному процессу, в ходе которого материалы на основе углерода преобразуются в смесь газов, включающую водород, монооксид углерода и диоксид углерода, называемую синтез-газом, сингазом или генераторным газом. Процесс обычно включает частичное сжигание и/или применение генерируемого извне тепла вместе с контролируемым добавлением кислорода и/или пара, так что кислорода недостаточно для полного сгорания углеродсодержащего материала.

[34] «Галофил» относится к типу экстремофилов, которые процветают в среде с очень высокой концентрацией соли.

[35] «Гетеротрофные» относятся к организмам, которые не могут синтезировать все органические соединения, необходимые организму для жизни и роста, из углекислого газа, и которые должны использовать органические соединения для роста. Гетеротрофные организмы не могут производить свою собственную пищу и вместо этого получают пищу и энергию, поглощая и метаболизируя органические вещества, такие как остатки растительного или животного мира, т. е. вместо того, чтобы фиксировать углерод из неорганических источников, таких как диоксид углерода.

[36] «Окислитель водорода» относится к микроорганизму, который использует восстановленный H_2 в качестве донора электронов для производства внутриклеточных восстановительных эквивалентов и/или при дыхании.

[37] «Гипертермофил» относится к типу экстремофилов, которые процветают в чрезвычайно жарких условиях на протяжении всей жизни, обычно около $60^{\circ}C$ ($140^{\circ}F$) или выше.

[38] Термин «водородокисляющий» относится к смеси молекулярного водорода и газообразного кислорода. «Водородокисляющий микроорганизм» представляет собой микроб, который может использовать водород в качестве донора электронов и кислород в качестве акцептора электронов при дыхании для выработки внутриклеточных переносчиков энергии, таких как аденозин-5'-трифосфат (АТФ). Термины «кислородно-водородный» и «кислородно-водородный микроорганизм» могут быть использованы как синонимы терминов «водородокисляющий» и «водородокисляющий микроорганизм» соответственно. Водородокисляющие микроорганизмы обычно используют молекулярный водород с помощью гидрогеназ, при этом часть электронов, переданных от H_2 , используется для восстановления NAD^+ (и/или других внутриклеточных восстанавливающих эквивалентов), а часть электронов от H_2 используется для аэробного дыхания. Водородокисляющие микроорганизмы обычно фиксируют CO_2 аутотрофно, посредством путей, включая, помимо прочего, цикл Кальвина или обратный цикл лимонной кислоты [«Thermophilic bacteria», Jakob Kristjansson, Chapter 5, Section III, CRC Press, (1992)].

[39] Термин «лизат» относится к жидкости, содержащей смесь и/или раствор клеточного содержимого, полученного в результате лизиса клеток. В некоторых вариантах осуществления способы, описанные в данном документе, включают очистку химических веществ или смеси химических веществ в клеточном лизате. В некоторых вариантах осуществления способы включают очистку аминокислот и/или белка в клеточном лизате.

[40] Термин «лизис» относится к разрыву плазматической мембраны и, если она присутствует, клеточной стенки клетки, так что значительное количество внутриклеточного материала выходит во внеклеточное пространство. Лизис можно проводить с помощью электрохимических, механических, осмотических, термических или вирусных средств. В некоторых вариантах осуществления способы, описанные в данном документе, включают проведение лизиса клеток или микроорганизмов, как описано в данном документе, для выделения химического вещества или смеси химических веществ из содержимого биореактора. В некоторых вариантах осуществления способы включают проведение лизиса клеток или микроорганизмов, описанных в данном документе, для выделения аминокислоты или смеси аминокислот и/или белков из содержимого биореактора или среды для роста клеток.

[41] «Метаноген» относится к микроорганизму, который вырабатывает метан как продукт анаэробного дыхания.

[42] «Метилотроф» относится к микроорганизму, который может использовать восстановленные одноуглеродные соединения, такие как, но не ограничиваясь ими, метанол или метан, в качестве источника углерода и/или в качестве донора электронов для своего роста.

[43] Термины «микроорганизм» и «микроб» означают микроскопические одноклеточные формы жизни.

[44] Термин «молекула» означает любую отдельную или различимую структурную единицу вещества, содержащую один или более атомов, и включает, например, углеводороды, липиды, полипептиды и полинуклеотиды.

[45] «Олигопептид» относится к пептиду, который содержит относительно небольшое количество аминокислотных остатков, например, от около 2 до около 20 аминокислот.

[46] Используемый в данном документе в описании и в формуле изобретения «или» следует понимать как имеющий то же значение, что и «и/или», как определено выше. Например, при разделении элементов в списке «или» или «и/или» следует интерпретировать как включающее, т. е., включение по меньшей мере одного, но также и более одного, из количества или списка элементов, и, необязательно, дополнительных элементов, не внесенных в список. Только термины, явно указывающие на обратное, такие как «только один из» или «ровно один из» или, при использовании в формуле изобретения, «состоящий из» будут относиться к включению ровно одного элемента из количества или списка элементов. Как правило, термин «или», используемый в данном документе, должен интерпретироваться только как указывающий на исключительные альтернативы (то есть «один или другой, но не оба»), когда ему предшествуют условия исключительности, такие

как «либо», «один из», «только один из» или «ровно один из». «Состоящий по существу из» при использовании в формуле изобретения имеет свое обычное значение, используемое в области патентного права.

[47] Термин «органическое соединение» относится к любому газообразному, жидкому или твердому химическому соединению, содержащему атомы углерода, за следующими исключениями, которые считаются неорганическими: карбиды, карбонаты, простые оксиды углерода, цианиды и аллотропы чистого углерода, такие как алмаз и графит.

[48] «Пептид» относится к соединению (полипептиду), состоящему из двух или более аминокислот, соединенных в цепь, причем карбоксильная группа каждой кислоты соединена с аминогруппой следующей посредством связи типа R-OC-NH- R', например, от около 2 аминокислот до около 50 аминокислот или от 21 аминокислоты до около 50 аминокислот.

[49] Используемый в данном документе термин «полинуклеотид» относится к полимерной форме нуклеотидов любой длины и любой трехмерной структуры, а также одноцепочечной или многоцепочечной (например, одноцепочечной, двухцепочечной, трехспиральной и т. д.), которые содержат дезоксирибонуклеотиды, рибонуклеотиды и/или аналоги или модифицированные формы дезоксирибонуклеотидов или рибонуклеотидов, включая модифицированные нуклеотиды или основания или их аналоги. Поскольку генетический код является вырожденным, для кодирования конкретной аминокислоты может использоваться более одного кодона, и настоящее изобретение охватывает полинуклеотиды, которые кодируют конкретную аминокислотную последовательность. Можно использовать любой тип модифицированного нуклеотида или аналога нуклеотида при условии, что полинуклеотид сохраняет желаемую функциональность в условиях применения, включая модификации, повышающие устойчивость к нуклеазам (например, дезокси, 2'-O-Me, фосфоротиоаты и т. д.). Метки также могут быть включены в целях обнаружения или захвата, например, радиоактивные или нерадиоактивные метки или якоря, например, биотин. Термин полинуклеотид также включает пептидные нуклеиновые кислоты (PNA). Полинуклеотиды могут встречаться в природе или не встречаться в природе. Термины «полинуклеотид», «нуклеиновая кислота» и «олигонуклеотид» используются в данном документе взаимозаменяемо. Полинуклеотиды могут содержать РНК, ДНК или и то, и другое, и/или их модифицированные формы, и/или аналоги. Последовательность нуклеотидов может быть прервана ненуклеотидными компонентами. Одна или более фосфодиэфирных связей могут быть заменены альтернативными связывающими группами. Эти альтернативные связывающие группы включают, но не ограничиваются ими, варианты осуществления, в которых фосфат заменен на P(O)S

(«тиоат»), P(S)S («дитиоат»), (O)NR.sub.2 («амидат»), P(O)R, P(O)OR', CO или CH.sub.2 («формацеталь»), в которых каждый R или R' независимо представляет собой H или замещенный или незамещенный алкил (1-20 C), необязательно содержащий эфирную (--O-) связь, арил, алкенил, циклоалкил, циклоалкенил или аральдил. Не все связи в полинуклеотиде обязательно должны быть идентичными. Полинуклеотиды могут быть линейными или кольцевыми или содержать комбинацию линейных и кольцевых частей.

[50] Используемый в данном документе термин «полипептид» относится к композиции, состоящей из аминокислот и признанной специалистами в данной области техники в качестве белка. В данном документе используется обычный однобуквенный или трехбуквенный код аминокислотных остатков. Термины «полипептид» и «белок» используются в данном документе взаимозаменяемо для обозначения полимеров аминокислот любой длины. Полимер может быть линейным или разветвленным, он может содержать модифицированные аминокислоты, и он может быть разделен не аминокислотами. Кроме того, указанные термины включают аминокислотный полимер, который был модифицирован природным путем или путем вмешательства; например, образованием дисульфидных связей, гликозилированием, липидацией, ацетилированием, фосфорилированием или любыми другими манипуляциями или модификациями, такие как конъюгация с меченым компонентом. Также термин включает, например, полипептиды, содержащие один или более аналогов аминокислоты (включающие, например, неприродные аминокислоты и т. д.), а также другие модификации известные в данной области техники.

[51] Термин «предшественник» является промежуточным продуктом для производства одного или нескольких компонентов готового продукта.

[52] «Генераторный газ» относится к газовой смеси, содержащей различные пропорции N_2 , CO и CO_2 и имеющей теплотворную способность, как правило, в пределах от половины до одной десятой теплотворной способности природного газа на единицу объема при стандартных условиях. Генераторный газ может быть получен различными способами из различного сырья, включая газификацию, паровой риформинг или автореформинг углеродсодержащего сырья. В дополнение к N_2 , CO и CO_2 генераторные газы могут содержать другие компоненты, включая, помимо прочего, метан, сероводород, конденсирующиеся газы, смолы и золу, в зависимости от процесса производства и исходного сырья. Доля N_2 в смеси может быть высокой или низкой в зависимости от того, используется ли воздух в качестве окислителя в реакторе или нет, и от того, обеспечивается ли тепло для реакции прямым сжиганием или косвенным теплообменом.

[53] Термин «продуцирующий» включает как внутриклеточную, так и внеклеточную продукцию соединений, включая секрецию соединений из клетки.

[54] «Психрофил» относится к типу экстремофилов, способных к росту и размножению при низких температурах, обычно около 10°C и ниже.

[55] Термины «восстановленный», «выделенный», «очищенный» и «отделенный», используемые в данном документе, относятся к материалу (например, белку, нуклеиновой кислоте или клетке), который удален по меньшей мере из одного компонента, с которым он природным образом связан. Например, эти термины могут относиться к материалу, который по сути или по существу свободен от компонентов, которые обычно сопровождают его в его нативном состоянии, как, например, интактная биологическая система.

[56] Фраза «по сути не содержит» или «практически не содержит» в отношении любого данного компонента означает, что такой компонент присутствует, если вообще присутствует, только в количестве, которое является функционально незначительным количеством, то есть он не оказывает существенного отрицательного влияния на предполагаемые характеристики или функцию любого процесса или продукта. Как правило, «по сути не содержит» означает менее около 1%, в том числе менее около 0,5%, в том числе менее около 0,1%, а также включая ноль процентов по массе такого компонента. Термины «по сути не содержит» или «практически не содержит» означают менее 1% компонента.

[57] «Окислитель серы» относится к микроорганизмам, которые используют восстановленные соединения, содержащие серу, включая, но не ограничиваясь ими, H_2S в качестве доноров электронов для производства внутриклеточных восстановительных эквивалентов и/или при дыхании.

[58] «Сингаз» или «синтез-газ» относится к типу газовой смеси, которая, как и генераторный газ, содержит H_2 и CO , но которая была специально адаптирована с точки зрения содержания H_2 и CO , соотношения и уровня примесей для синтеза определенного типа химического продукта, такого как, но не ограничиваясь этим, метанол или дизельное топливо Фишера-Тропша. Сингаз обычно содержит H_2 , CO и CO_2 в качестве основных компонентов и может быть получен с помощью общепринятых методов, включая: паровую конверсию метана; или путем газификации любого органического, легковоспламеняющегося материала на основе углерода, включая, помимо прочего, биомассу, органическое вещество или торф. Водородный компонент сингаза может быть увеличен за счет реакции CO с паром в реакции конверсии водяного газа с сопутствующим увеличением содержания CO_2 в смеси сингаза.

[59] «Термофил» относится к типу экстремофилов, которые процветают при относительно высоких температурах на протяжении всей жизни, обычно от около 45°C до около 122°C.

[60] «Дикий тип» относится к микроорганизму, встречающемуся в природе.

[61] «Выход» относится к количеству продукта, полученного из кормового материала, по отношению к общему количеству вещества, которое было бы произведено, если бы все сырьевое вещество было преобразовано в продукт. Например, выход продукта может быть выражен в % произведенного продукта по отношению к теоретическому выходу, если 100% исходного вещества было превращено в продукт.

Пищевые продукты с высоким содержанием белка

[62] В некоторых вариантах осуществления предложены пищевые композиции с высоким содержанием белка, а также способы их получения. «Белковый продукт» (например, один или более из одноклеточного белка, клеточного лизата, белкового концентрата, белкового изолята, белкового экстракта, белкового гидролизата, свободных аминокислот, пептидов, олигопептидов или их комбинации), полученный из одного или нескольких микроорганизмов, описанных в данном документе, может быть переработан или включен в пищевую композицию с высоким содержанием белка для потребления человеком и/или животными. Пищевая композиция (пищевой продукт) может быть, например, пищевым продуктом, и/или пищевым ингредиентом, и/или питательным продуктом, и/или кормом для животных, и/или кормовым продуктом для домашних животных. В некоторых вариантах осуществления пищевая композиция может содержать любое количество из по меньшей мере около 20%, по меньшей мере около 25%, по меньшей мере около 30%, по меньшей мере около 35%, по меньшей мере около 40%, по меньшей мере около 45%, по меньшей мере около 50%, по меньшей мере около 55%, по меньшей мере около 60%, по меньшей мере около 65%, по меньшей мере около 70%, по меньшей мере около 75%, по меньшей мере около 80%, по меньшей мере около 85% или по меньшей мере около 90% микробного белкового продукта, как описано в данном документе, по массе, *например*, по массе в пересчете на сухое вещество.

[63] В определенных вариантах осуществления описанные в данном документе белковые продукты используются при производстве вегетарианского или веганского пищевого продукта. В определенных вариантах осуществления они используются в производстве органического пищевого продукта и/или пищевого продукта без пестицидов, и/или без гербицидов, и/или без фунгицидов, и/или без антибиотиков, и/или негенетически модифицированного (без ГМО). В определенных вариантах осуществления они используются в пищевых продуктах местного производства. В определенных вариантах

осуществления они используются в пробиотическом пищевом продукте или в пребиотическом пищевом продукте (например, в пребиотическом питательном продукте).

[64] Предложены способы изготовления пищевого продукта с высоким содержанием белка, который включает один или более белковых продуктов из одного или более микроорганизмов, описанных в данном документе. В определенных вариантах осуществления пищевой продукт не содержит животных белков и жиров. В определенных вариантах осуществления белковый(-ые) продукт(-ы) включены в пищевые продукты, включая, помимо прочего, молочные продукты, продукты-заменители молочных продуктов, мясные продукты (включая домашний скот, дичь, птицу, рыбу или продукты из морепродуктов), заменители мяса и/или продукты, имитирующие мясо (включая продукты, имитирующие домашний скот, дичь, птицу, рыбу или морепродукты), хлебобулочные изделия, кондитерские изделия, диетические и протеиновые батончики, протеиновые порошки, спортивные и/или энергетические напитки и/или протеиновые коктейли и/или смузи. В определенных вариантах осуществления белковые продукты текстурированы для включения в мясные продукты и/или продукты, имитирующие мясо. В определенных вариантах осуществления ингредиент с высоким содержанием белка можно использовать в качестве мясного наполнителя в говяжьих котлетах.

[65] В определенных вариантах осуществления описанный в данном документе пищевой продукт с высоким содержанием белка не содержит животные жиры. В определенных вариантах осуществления он имеет относительно высокое соотношение полиненасыщенных жиров к насыщенным жирам. В определенных вариантах осуществления он имеет высококачественное содержание белка, примерно сравнимое с молочным белком. В определенных неограничивающих вариантах осуществления содержание аминокислот в нем по существу сходно, очень близко или идентично содержанию, рекомендованному Продовольственной и сельскохозяйственной организацией Объединенных Наций в качестве идеального. В определенных вариантах осуществления пищевые продукты, приготовленные с использованием белковых продуктов по настоящему изобретению, представляют собой здоровые и/или низкокалорийные продукты. В определенных вариантах осуществления белковый продукт имеет мягкий вкус, и/или светло-кремовый цвет, и/или легко диспергируется, и/или имеет относительно высокое водопоглощение, и/или относительно высокое поглощение жира. В определенных вариантах осуществления белковый продукт может быть сформирован в виде волокон и/или термически экструдирован и/или коагулирован в гель. В определенных таких неограничивающих вариантах осуществления коагуляция геля происходит при pH, находящимся в диапазоне от около 3 до около 6 при нагревании. В определенных вариантах

осуществления одно или более свойств белкового продукта делают его подходящим для включения в пищевые продукты, включая, помимо прочего, молочные продукты, продукты-заменители молока, мясные продукты, продукты-заменители мяса и/или продукты, имитирующие мясо, хлебобулочные изделия, кондитерские изделия, диетические и протеиновые батончики, протеиновые порошки, спортивные и/или энергетические напитки и/или протеиновые коктейли и/или смузи. В определенных вариантах осуществления белковый продукт текстурирован для включения в мясные продукты и/или продукты, имитирующие мясо. В определенных вариантах осуществления белковый продукт можно использовать в качестве мясного наполнителя, например, в качестве мясного наполнителя в котлетах из говядины. В определенных неограничивающих вариантах осуществления примерно 30 частей белкового продукта можно сочетать с 70 частями мяса, например, говяжьего фарша, а в других вариантах осуществления примерно 10 частей белкового продукта на 90 частей мяса, например, говяжьего фарша. В определенных неограничивающих вариантах осуществления белковый продукт сочетается с говядиной и/или другими мясными продуктами в соотношении, которое соответствует требованиям, установленным Министерством сельского хозяйства США, и/или в соответствии с положениями, регулируемыми Национальную программу школьных обедов (школьный обед типа А). В определенных неограничивающих вариантах осуществления белковый продукт включен в состав, имеющий комбинированный коэффициент белковой эквивалентности (PER) около 2,6. В определенных неограничивающих вариантах осуществления водопоглощающие и/или жиросвязывающие свойства белкового продукта способствуют уменьшению усадки (потеря жира и воды) при приготовлении и/или повышают влажность и текстуру приготовленной котлеты или другого мясного или пищевого продукта.

[66] В определенных вариантах осуществления белковый продукт, полученный, как описано в данном документе, включен в рецепт и/или состав вместе с одним или более из следующих ингредиентов: вода; помидоры; томатный сок; томатный соус; бобы; специи, в том числе специи чили, но не ограничиваясь ими; приправа; животный белок; говядина; домашняя птица (например, курица, индейка, утка, гусь); свинина; рыба; морепродукты; соя; пшеница; мука; дрожжи; дрожжевой экстракт; спирулина; маргарин; масло; молочные продукты; сыр; сахар; коричневый сахар; мед; яйца; соль; ваниль; шоколад; пищевая сода; порошок для выпечки; сгущенное молоко и/или карамель. В определенных вариантах осуществления указанные комбинированные ингредиенты подвергаются одному или нескольким из следующих процессов: гидратации; смешивания; перемешивания; взбивания; просеивания; окропления; обогрева; приготовления; жарки; жарки во фритюре;

выпечки; варки; подрумянивания; кипения. В определенных вариантах осуществления указанные ингредиенты обжаривают при температуре около 350°F и/или запекают или готовят при температуре от около 375° до 450°F. В определенных вариантах осуществления белковый продукт используется в качестве мясного наполнителя или заменителя мяса в одном или нескольких из следующих продуктов: котлеты; мясо с перцем чили; начинки для пиццы; говяжий фарш; куриные наггетсы; рыбные палочки. В определенных вариантах осуществления в качестве наполнителя и/или заменителя мяса белковый продукт заменяет около 50% или более около 50% (*например*, любое из по меньшей мере около 50%, по меньшей мере около 55%, по меньшей мере около 60%, по меньшей мере около 65%, по меньшей мере около 70%, по меньшей мере около 75% или по меньшей мере около 80%) мясного ингредиента в пищевом продукте, в других вариантах осуществления они заменяют менее 50% (*например*, любое из менее около 45%, менее около 40%, менее около 35%, менее около 30%, менее около 25%, менее около 20%, менее около 15% или менее около 10%).

[67] В определенных вариантах осуществления ингредиент белкового продукта придает пищевому продукту, такому как продукт на основе злаков, улучшенные питательные свойства, водопоглощение, жиросвязывающие свойства, текстуру и/или вкусовые качества. В определенных вариантах осуществления указанный ингредиент белкового продукта используется для обогащения или иным образом включается в продукт на основе злаков. В определенных указанных вариантах осуществления указанный продукт на зерновой основе представляет собой хлопья для завтрака, печенье, пирожные, пироги, пирожные, кексы или хлеб. В определенных вариантах осуществления белковый продукт используется в качестве замены молочных белков (*например*, казеината натрия) и/или в качестве витаминной и/или минеральной добавки к молоку или молочным продуктам. В определенных таких вариантах осуществления ингредиент белкового продукта используется в одном или нескольких из обезжиренного сухого молока, сухого молока или молочных напитков, таких как, но не ограничиваясь ими, быстрорастворимые смеси для завтрака или напитки, имитирующие молочные продукты, включая, но не ограничиваясь ими, соевым молоком, рисовым молоком и миндальным молоком. В определенных вариантах осуществления ингредиент белкового продукта используется в обогащенных питательными веществами (*например*, обогащенных белком, витаминами и/или минералами) конфетах, десертах или лакомствах.

[68] В некоторых вариантах осуществления белковый продукт (*например*, один или более из одноклеточного белка, клеточного лизата, белкового концентрата, белкового изолята, белкового экстракта, белкового гидролизата, свободных аминокислот, пептидов,

олигопептидов или их комбинаций), полученный из одного или нескольких микроорганизмов, описанных в данном документе, перерабатывается для получения пищевого продукта или его ингредиента в процессе, который включает нагревание белкового продукта, необязательно в комбинации с другими ингредиентами, такими как, например, белок растительного происхождения, при сдвиговом перемешивании с последующей экструзией для получения продукта желаемой текстуры (например, жевательной, хрустящей, хрусткой, устойчивой к диспергированию в воде и т. д.). В иллюстративных неограничивающих вариантах осуществления водный состав белкового продукта (например, содержащий от около 20% (вес./вес) до около 50% (вес./вес), от около 20% (вес./вес) до около 40% (вес./вес), от около 30% (вес./вес) до около 50% (вес./вес), от около 20% (вес./вес) до около 35% (вес./вес) или от около 35% (вес./вес) до около 50% (вес./вес) воды), необязательно в комбинации с растительными материалами, такими как растительный белок (например, соевая мука, кунжутная мука, хлопковая мука, кукурузная мука, пшеничная мука и/или арахисовая мука), нагревают до температуры около 150°F, около 400°F или от около 225°F до около 275°F, в течение от около 10 секунд до около 300 секунд, путем приложения силы сдвига, необязательно одновременно с нагревом, например, со скоростью сдвига от около 10 об./мин. до около 60 об./мин. и крутящим моментом от около 200 до около 2000 м-грамм, и экструдированием нагретого и подвергнутого сдвигу белкового продукта через головку для обеспечения формованного экструдата. Необязательно экструдат подвергают воздействию кислородсодержащего газового потока. В одном варианте осуществления кислородсодержащий газовый поток представляет собой воздушный поток (например, поток сухого воздуха), например, при температуре от около 80°F до около 212°F в течение от около 0,5 минут до около 10 минут.

[69] В некоторых вариантах осуществления белковый продукт (например, один или более из одноклеточного белка, клеточного лизата, белкового концентрата, белкового изолята, белкового экстракта, белкового гидролизата, свободных аминокислот, пептидов, олигопептидов или их комбинаций), полученный из одного или нескольких микроорганизмов, описанных в данном документе, обрабатывается для производства пищевого продукта или его ингредиента в процессе, который включает объединение белкового продукта с одним или более дополнительными источниками белка (такими как, но не ограничиваясь ими, горох, рис, клейкий рис, пшеница, глютен, соя, конопля, рапс, насекомые, водоросли и/или гречиха), нагревание смеси (например, от около 150°F до около 400°F и воздействие на смесь усилия сдвига с помощью экструдера для создания текстурированного продукта с желаемой текстурой и/или функциональными

характеристиками (например, жевательные, хрустящие, хрусткие, устойчивые к диспергированию в воде и т. д.).

[70] В некоторых вариантах осуществления свободные аминокислоты включены либо как часть белкового продукта, либо в качестве добавки к белковому продукту для придания желаемого вкуса. В одном неограничивающем варианте осуществления включена глутаминовая кислота, что придает пищевому продукту вкус умами.

[71] В некоторых вариантах осуществления, например, в заменитель мяса или искусственный мясной продукт в композицию включают гидрогель, липогель и/или эмульсию, например, в качестве системы высвобождения агента (например, для высвобождения красителя, ароматизатора, жирной кислоты, разрыхлителя, желирующего агента (например, бикарбоната (например, бикарбоната калия), гидроксида кальция и/или альгината (например, альгината натрия или калия)), при этом агент(-ы) могут высвобождаться во время приготовления пищевого продукта, имитирующего мясо животных).

[72] В некоторых вариантах осуществления пищевой продукт включает один или более источников растительного белка, таких как, помимо прочего, горох, рис, клейкий рис, пшеница, глютен, соя, конопля, рапс, насекомые, водоросли и/или гречиха, в комбинации с белковым продуктом, продуцируемым микроорганизмами, как описано в данном документе (например, один или более из одноклеточного белка, клеточного лизата, белкового концентрата, белкового изолята, белкового экстракта, белкового гидролизата, свободных аминокислот, пептидов, олигопептидов или их комбинаций), при этом белковый продукт придает аромат для пищевой композиции, такой как, например, мясной аромат (включая мясной аромат домашнего скота, дичи, птицы или морепродуктов).

[73] В некоторых вариантах осуществления пищевой продукт, например, заменитель мяса или искусственный мясной продукт, включает соединение гема, такое как гем-содержащий полипептид. В одном варианте осуществления пищевой продукт включает гем (например, гем-содержащий полипептид) микроорганизма, из которого получен белковый продукт. В определенных таких вариантах осуществления указанный микроорганизм представляет собой микроорганизм *Cupriavidus*, такой как *Cupriavidus necator*.

[74] В некоторых вариантах осуществления заменитель мяса или искусственный мясной продукт, или имитирующий мясо продукт (например, продукт из домашнего скота (например, говядина, свинина), дичи, птицы, рыбы или продукт-аналога морепродуктов) включает белковый продукт, продуцируемый микроорганизмами, как описано в данном документе (например, один или более из одноклеточного белка, клеточного лизата, белкового концентрата, белкового изолята, белкового экстракта, белкового гидролизата,

свободных аминокислот, пептидов, олигопептидов или их комбинаций). В некоторых вариантах осуществления продукт-аналог мяса является веганским продуктом, который не содержит ингредиентов животного происхождения. В некоторых вариантах осуществления предложен улучшенный мясной продукт, который содержит животный белок (например, говядина, птица, свинина, рыба, морепродукты или яичный продукт, причем часть продукта представляет собой белковый ингредиент продукта, вырабатываемый микроорганизмами, как описано в данном документе (например, один или более из одноклеточного белка, клеточного лизата, белкового концентрата, белкового изолята, белкового экстракта, белкового гидролизата, свободных аминокислот, пептидов, олигопептидов или их комбинаций)). Например, белковый продукт может быть включен в качестве наполнителя в улучшенный мясной продукт или в продукт-аналог мяса, например, белковый продукт заменяет любое из по меньшей мере около 10%, по меньшей мере около 20%, по меньшей мере около 30%, по меньшей мере около 40%, по меньшей мере около 50%, по меньшей мере около 60% или по меньшей мере около 70% мясного ингредиента или искусственного мясного ингредиента, или имитирующего мясо ингредиента (например, растительного искусственного или имитирующего мясо ингредиента) для производства улучшенного мясного продукта или продукт-аналога мяса/имитирующего мясо продукта соответственно. В некоторых вариантах осуществления микроорганизмы представляют собой микроорганизмы, выращенные на CO₂ или на воздухе, например, кислородно-водородные микроорганизмы. Неограничивающие примеры продуктов-заменителей мяса представлены в патентах США №№ 10327464, 10314325, 10287568, 10273492, 10172380, 10172381, 10093913, 10087434, 10039306, 9943096, 9938327, 9833768, 9826772, 9808029, 9737875, 9700067 и 9011949, которые полностью включены в данный документ посредством ссылки.

[75] В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере часть, весь или практически весь белковый продукт в пищевом продукте, описанном в данном документе, включая, но не ограничиваясь этим, заменитель мяса или искусственный мясной продукт, включает белковый продукт (например, один или более из одноклеточного белка, клеточного лизата, белкового концентрата, белкового изолята, белкового экстракта, белкового гидролизата, свободных аминокислот, пептидов, олигопептидов или их комбинаций), полученный из микроорганизма *Cupriavidus*, такого как, но не ограничиваясь этим, *Cupriavidus necator*, например, DSM 531 или DSM 541.

[76] В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере часть, весь или практически весь белковый продукт в пищевом продукте, описанном в данном документе, включая, но не ограничиваясь этим, заменитель мяса или искусственный мясной продукт, включает

белковый продукт (например, один или более из одноклеточного белка, клеточного лизата, белкового концентрата, белкового изолята, белкового экстракта, белкового гидролизата, свободных аминокислот, пептидов, олигопептидов или их комбинаций), полученный из молочнокислых бактерий, таких как, но не ограничиваясь ими, бактерии *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Streptococcus* или *Pediococcus*. В некоторых вариантах осуществления молочнокислая бактерия является общепризнанной безопасной (GRAS) бактерией.

[77] В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере часть или весь белковый продукт в пищевом продукте, описанном в данном документе, включая, но не ограничиваясь этим, заменитель мяса или искусственный мясной продукт, включает белковый продукт (например, один или более из одноклеточного белка, клеточного лизата, белкового концентрата, белкового изолята, белкового экстракта, белкового гидролизата, свободных аминокислот, пептидов, олигопептидов или их комбинаций), полученный из грибкового микроорганизма *Fusarium*, *Rhizopus* или *Aspergillus*, например, но не ограничиваясь ими, *Fusarium venenatum*, *Rhizopus oligosporus*, *Rhizopus oryzae*, *Aspergillus oryzae* или *Apergillus sojae*. В некоторых вариантах осуществления грибковый микроорганизм представляет собой микроорганизм GRAS.

Продукты-аналоги мяса

[78] Предложены искусственные мясные продукты, которые напоминают и/или имеют вкус мяса животных (например, мяса домашнего скота, дичи, птицы, рыбы или морепродуктов). Искусственный мясной продукт содержит белковый продукт (например, один или более из одноклеточного белка, клеточного лизата, белкового концентрата, белкового изолята, белкового экстракта, белкового гидролизата, свободных аминокислот, пептидов, олигопептидов или их комбинаций), полученный из одного или нескольких микроорганизмов, как описано в данном документе, и имитирует текстуру и/или физические характеристики мяса животных, такие как, например, вкус, аромат, текстура, внешний вид и т. д.

[79] В некоторых вариантах осуществления искусственный мясной продукт содержит по меньшей мере около 10%, по меньшей мере около 15%, по меньшей мере около 20% или по меньшей мере около 25% по массе микробного белкового продукта, описанного в данном документе, необязательно связанного вместе одним или более связующими веществами, для получения пищевого продукта, имеющего одну или более сходных текстурных и/или функциональных характеристик по сравнению с мясом животных. В некоторых вариантах осуществления искусственный мясной продукт напоминает мясо животных, например,

фарш из мяса животных (например, говяжий фарш, фарш из свинины, фарш из индейки). В некоторых вариантах осуществления искусственный мясной продукт в основном или полностью состоит из ингредиентов, полученных из неживотных источников. В альтернативных вариантах осуществления искусственный мясной продукт состоит из ингредиентов, частично полученных из животных источников, но дополненных ингредиентами, полученными из неживотных источников. В некоторых вариантах осуществления искусственный мясной продукт дополнительно включает одну или более систем высвобождения агента и/или другие ингредиенты. В различных вариантах осуществления искусственные мясные продукты по настоящему изобретению могут быть нарезаны ломтиками, нарезаны, измельчены, нашинкованы, натерты на терке или обработаны иным образом или оставлены необработанными. Примеры нарезанных форм включают, но не ограничиваются ими, сушеное мясо, вяленое мясо и нарезанные ломтиками мясные деликатесы. В некоторых вариантах осуществления пищевые продукты из искусственного мяса, представленные в данном документе, измельчают и затем связывают вместе, нарезают на куски и формуют, измельчают и формуют или нарезают и формуют, например, для получения продукта, похожего по внешнему виду и/или текстуре на вяленое мясо животного происхождения.

[80] В некоторых вариантах осуществления искусственные мясные продукты являются веганскими. В некоторых вариантах осуществления искусственные мясные продукты не содержат ГМО-ингредиентов. В некоторых вариантах осуществления искусственные мясные продукты не содержат ингредиентов, полученных из орехов. В некоторых вариантах осуществления искусственные мясные продукты содержат менее около 0,6% или менее около 0,5% по массе натрия. В некоторых вариантах осуществления мясоподобные пищевые продукты не содержат глютена или практически не содержат глютена. В некоторых вариантах осуществления мясоподобные пищевые продукты не содержат сои или практически не содержат сои.

[81] В некоторых вариантах осуществления пищевые продукты из искусственного мяса, предусмотренные в данном документе, содержат от около 5% до около 30% по массе липида, *например*, от около 5% до около 10%, от около 10% до около 15%, от около 15% до около 20%, от около 20% до около 30%, от около 5% до около 15%, от около 10% до около 20%, от около 20% до около 30%, от около 5% до около 15%, от около 15% до около 30%, от около 5% до около 25% или от около 10% до около 30 по массе липида. В некоторых вариантах осуществления искусственные мясные продукты содержат от около 0,5% до около 10% по массе общего количества углеводов, *например*, от около 0,5% до около 1%, от около 1% до около 5%, от около 5% до около 10%, от около 2% до около 8% или от около

3% до около 6% по массе общего количества углеводов. В некоторых вариантах осуществления искусственные мясные продукты содержат от около 0,5% до около 5% по массе съедобного волокна, *например*, от около 0,5% до около 1%, от около 1% до около 5%, от около 5% до около 10%, от около 2% до около 8% или от около 3% до около 6% по массе съедобного волокна.

[82] Предложенные в данном документе искусственные мясные продукты имеют содержание влаги (МС) по меньшей мере около 30%, по меньшей мере около 40%, по меньшей мере около 50%, по меньшей мере около 60%, по меньшей мере около 70%, по меньшей мере около 80% или по меньшей мере около 90% по массе. В некоторых вариантах осуществления искусственные мясные продукты содержат такие же МС, как и мясо животных (*например*, домашний скот, дичь, птица, рыба или мясо морепродуктов).

[83] В некоторых вариантах осуществления искусственные мясные продукты содержат один или более красителей. В некоторых вариантах осуществления искусственные мясные продукты содержат один или более усилителей окраски. В некоторых вариантах осуществления мясоподобные пищевые продукты содержат смеси двух или более красителей, стабилизаторов цвета и/или усилителей цвета. Неограничивающие примеры таких смесей включают экстракт свеклы и аннато, экстракт свеклы и куркуму, экстракт свеклы и шафран, экстракт свеклы и фиолетовую морковь, экстракт свеклы и экстракт виноградных косточек, экстракт свеклы и экстракт помидоров, экстракт свеклы и ликопин, экстракт свеклы и бета-каротин, экстракт свеклы и антоциан, экстракт свеклы и антоцианин и аннато, экстракт свеклы и аннато и ликопин, экстракт свеклы и аскорбиновая кислота, антоцианин и аннато, экстракт свеклы и аннато и аскорбиновая кислота, экстракт свеклы и аннато и бета-каротин, экстракт свеклы и куркума и аскорбиновая кислота, и антоцианин и ликопин и аннато. В некоторых таких вариантах осуществления красители, стабилизаторы цвета и/или усилители цвета присутствуют в равных массовых соотношениях. В других таких вариантах осуществления красители, стабилизаторы цвета и/или усилители цвета присутствуют в неравных массовых соотношениях (*например*, 55:45, 60:40, 65:35, 2:1, 70:30, 75:25, 80:20, 5:1, 85:15, 90:10, 20:1, 95:5 или 99:1). В некоторых вариантах осуществления искусственные мясные продукты содержат вещества для подрумянивания, такие как, но не ограничиваясь ими, пентоза (*например*, рибоза, арабиноза, ксилоза), гексоза (*например*, глюкоза, фруктоза, манноза, галактоза), декстрины и коммерческие средства для подрумянивания (*например*, красная декстроза, древесные вещества).

[84] В некоторых вариантах осуществления искусственный мясной продукт в данном документе включает один или более источников растительного белка, таких как, но не ограничиваясь ими, горох, рис, клейкий рис, пшеница, глютен, соя, конопля, рапс,

насекомые, водоросли и/или гречиха, в комбинации с белковым продуктом, продуцируемым микроорганизмами, как описано в данном документе, при этом белковый продукт придает композиции мясной вкус.

[85] В некоторых вариантах осуществления искусственный мясной продукт в данном документе включает соединение гема, такое как гемсодержащий полипептид. Например, соединение гема (например, гемсодержащий полипептид) может происходить из микроорганизма, из которого получен белковый продукт. В определенных таких вариантах осуществления соединение гема получают из микроорганизма *Cupriavidus*, например, *Cupriavidus necator*. В определенных таких вариантах осуществления соединение гема представляет собой гемоглобин или флавогемоглобин.

Белковые продукты

[86] Белковый продукт (например, один или более из одноклеточного белка, клеточного лизата, белкового концентрата, белкового изолята, белкового экстракта, белкового гидролизата, свободных аминокислот, пептидов, олигопептидов или их комбинаций) получен из биомассы и/или белкового изолята, белкового экстракта, белкового гидролизата, свободных аминокислот, пептидов, олигопептидов и/или содержит их, полученных из одного или нескольких микроорганизмов, описанных в данном документе.

[87] В соответствии с вариантом осуществления белковый продукт содержит от около 50% до около 55%, от около 55% до около 60%, от около 60% до около 65%, от около 65% до около 70%, от около 70% до около 75%, от около 75% до около 80%, от около 80% до около 85%, от около 85% до около 90%, от около 90% до около 95%, от около 95% до около 98%, по меньшей мере около 75%, по меньшей мере около 80%, по меньшей мере около 85%, по меньшей мере около 90%, по меньшей мере около 95% или по меньшей мере около 98% аминокислот, *например*, свободных аминокислот. В соответствии с вариантом осуществления белковый продукт содержит пептиды, которые содержат от около 50% до около 55%, от около 55% до около 60%, от около 60% до около 65%, от около 65% до около 70%, от около 70% до около 75%, от около 75% до около 80%, от около 80% до около 85%, от около 85% до около 90%, от около 90% до около 95%, от около 95% до около 98%, по меньшей мере около 50%, по меньшей мере около 55%, по меньшей мере около 60%, по меньшей мере около 65%, по меньшей мере около 70%, по меньшей мере около 75%, по меньшей мере около 80%, по меньшей мере около 85%, по меньшей мере около 90%, по меньшей мере около 95% или по меньшей мере около 98% олигопептидов. В соответствии с вариантом осуществления белковый продукт содержит пептиды, которые содержат от около 50% до около 55%, от около 55% до около 60%, от около 60% до около 65%, от около

продукт содержит количество от около 50% до около 55%, от около 55% до около 60%, от около 60% до около 65%, от около 65% до около 70%, от около 70% до около 75%, от около 75% до около 80%, от около 80% до около 85%, от около 85% до около 90%, от около 90% до около 95%, от около 95% до около 98%, по меньшей мере около 50%, по меньшей мере около 55%, по меньшей мере около 60%, по меньшей мере около 65%, по меньшей мере около 70%, по меньшей мере около 75%, по меньшей мере около 80%, по меньшей мере около 85%, по меньшей мере около 90%, по меньшей мере около 95% или по меньшей мере около 98% комбинации свободных аминокислот, олигопептидов и полипептидов, содержащих от 21 до 50 аминокислот, где соотношение свободных аминокислот и олигопептидов и полипептидов, содержащих от 21 до 50 аминокислот, составляет около 1:1:1, или от около 0 до около 3:от около 0 до около 3:от около 0 до около 3, или от около 3 до около 6:от около 0 до около 3:от около 0 до около 3, или от около 0 до около 3:от около 3 до около 6:от около 0 до около 3, или от около 0 до около 3:от около 3 до около 6, или от около 3 до около 6:от около 3 до около 6:от около 0 до около 3, или от около 0 до около 3:от около 3 до около 6:от около 3 до около 6, или от около 3 до около 6:от около 0 до около 3:от около 0 до около 3, или от около 0 до около 3:от около 6 до около 9:от около 0 до около 3:от около 0 до около 3, или от около 0 до около 3:от около 6 до около 9, или от около 6 до около 9:от около 6 до около 9:от около 0 до около 3, или от около 0 до около 3:от около 6 до около 9:от около 6 до около 9, или от около 6 до около 9:от около 0 до около 3:от около 6 до около 9.

[88] В некоторых вариантах осуществления белковый продукт содержит свободные аминокислоты. В определенных вариантах осуществления аминокислоты продуцируются микроорганизмом, описанным в данном документе, и в некоторых вариантах осуществления могут секретироваться им. Неограничивающие примеры микробной выработки аминокислот можно найти в заявке РСТ № WO2014/145194, которая полностью включена в данный документ посредством ссылки.

[89] В некоторых вариантах осуществления белковый продукт демонстрирует абсорбцию воды и/или масла на уровне, подходящем для включения в пищевую композицию, как описано в данном документе, например, но не ограничиваясь этим, в композицию искусственного мяса или заменителя мяса. Например, водоудерживающая способность белкового продукта может составлять от около 1 до около 10, например, от около 2 до около 4 раз по массе.

[90] В одном варианте осуществления белковый продукт включает гем (например, гемсодержащий полипептид), который продуцируется микроорганизмом, из которого

получен белковый продукт, таким как микроорганизм *Cupriavidus*, например, *Cupriavidus necator*.

[91] В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере часть, весь или практически весь белок в белковом продукте, описанном в данном документе, включая, но не ограничиваясь ими, одноклеточный белок, клеточный лизат, белковый концентрат, белковый изолят, белковый экстракт, белковый гидролизат, свободные аминокислоты, пептиды и/или олигопептиды, происходит от микроорганизма *Cupriavidus*, такого как, но не ограничиваясь этим, *Cupriavidus necator*, например, DSM 531 или DSM 541.

[92] В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере часть, весь или практически весь белок в белковом продукте, описанном в данном документе, включая, но не ограничиваясь ими, одноклеточный белок, клеточный лизат, белковый концентрат, белковый изолят, белковый экстракт, белковый гидролизат, свободные аминокислоты, пептиды и/или олигопептиды, получают из молочнокислых бактерий, таких как, но не ограничиваясь ими, бактерии *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Streptococcus* или *Pediococcus*. В некоторых вариантах осуществления молочнокислая бактерия является бактерией GRAS.

[93] В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере часть, весь или практически весь белковый продукт в белковом продукте, описанном в данном документе, включая, но не ограничиваясь ими, одноклеточный белок, клеточный лизат, белковый концентрат, белковый изолят, белковый экстракт, белковый гидролизат, свободные аминокислоты, пептиды и/или олигопептиды, происходит от грибкового микроорганизма *Fusarium*, *Rhizopus* или *Aspergillus*, например, но не ограничиваясь, *Fusarium venenatum*, *Rhizopus oligosporus*, *Rhizopus oryzae*, *Aspergillus oryzae* или *Aspergillus sojae*. В некоторых вариантах осуществления грибковый микроорганизм представляет собой микроорганизм GRAS.

Белковые концентраты

[94] В определенных вариантах осуществления используются методы, которые экстрагируют небелковые фракции (например, липиды, нуклеиновые кислоты, полисахариды) без солюбилизации основных белковых фракций. Восстанавливаемые нерастворимые белковые фракции представляют собой белковые концентраты. В определенных вариантах осуществления белковый концентрат получают из содержащей белок биомассы, продуцируемой одним или более микроорганизмами, как описано в данном документе.

[95] В определенных вариантах осуществления белковый концентрат получают методом экстракции растворителем. В определенных таких вариантах осуществления процесс

экстракции растворителем включает экстракцию или промывку спиртом, такую как, например, промывка водным раствором спирта. В определенных вариантах осуществления кислотная обработка используется для получения белкового концентрата. В определенных вариантах осуществления белковый концентрат производится в процессе тепловой денатурации.

[96] В определенных вариантах осуществления используются одна или более стадий экстракции растворителем, кислотной обработки и/или тепловой денатурации, которые могут использоваться последовательно или параллельно для производства белкового концентрата. В определенных вариантах осуществления за стадией экстракции растворителем следует стадия тепловой денатурации при производстве белкового концентрата. В определенных вариантах осуществления за стадией тепловой денатурации следует стадия экстракции растворителем при производстве белкового концентрата. В определенных вариантах осуществления стадия тепловой денатурации и кислотная обработка объединяются при производстве белкового концентрата. В определенных таких вариантах осуществления нерастворимый материал, полученный в результате обработки нагреванием и кислотой, подвергают стадии экстракции растворителем. В определенных вариантах осуществления белковый концентрат, полученный с помощью одной или нескольких стадий экстракции растворителем, кислотной обработки и/или тепловой денатурации, подвергают промыванию водой.

[97] В определенных вариантах осуществления белковый концентрат, описанный в данном документе, содержит по меньшей мере часть или большую часть масло- и/или водорастворимых небелковых компонентов, которые присутствовали в исходной биомассе, удаленной в процессе получения белкового концентрата.

[98] В определенных вариантах осуществления белковый концентрат, описанный в данном документе, содержит по меньшей мере около 60%, по меньшей мере около 70%, по меньшей мере около 80% или по меньшей мере около 90% белка по массе, на безводной основе. Содержание неочищенного белка можно определить как массовый процент общего азота (% N) в материале, умноженный на коэффициент Джонса, равный 6,25, т.е. неочищенный белок = $6,25 * \% N$. В определенных вариантах осуществления белковый концентрат, описанный в данном документе, имеет содержание неочищенного белка по меньшей мере около 60%, по меньшей мере около 70%, по меньшей мере около 80% или по меньшей мере около 90% белка по массе в пересчете на сухое вещество. Определение общего содержания аминокислот в белковом материале хорошо известно в области биохимического анализа (например, с использованием метода АОАС 994.12).. В определенных вариантах осуществления белковый концентрат, описанный в данном документе, содержит общее

количество аминокислот по меньшей мере около 60%, по меньшей мере около 70%, по меньшей мере около 80% или по меньшей мере около 90% по массе концентрата в пересчете на сухое вещество. В определенных вариантах осуществления белковый концентрат, полученный согласно настоящему изобретению, имеет более высокое содержание белка, и/или более высокое содержание неочищенного протеина, и/или более высокое общее содержание аминокислот, чем концентрат соевого белка.

[99] В определенных вариантах осуществления белковый концентрат, как описано в данном документе, содержит углеводов менее около 20%, менее около 10%, менее около 5% или менее около 1% по массе. В определенных вариантах осуществления белок, как описано в данном документе, имеет содержание золы менее около 10%, менее около 8%, менее около 5%, менее около 4%, менее около 3%, менее около 2% или менее около 1% по массе. В определенных вариантах осуществления белковый концентрат, как описано в данном документе, имеет содержание золы менее около 10%, менее около 8%, менее около 5%, менее около 4%, менее около 3%, менее около 2% или менее около 1% по массе.

[100] В определенных вариантах осуществления процесс экстракции растворителем применяется при производстве белкового концентрата. Растворитель может включать один или более спиртов или один или более спиртов в водном растворе. Производство белкового концентрата с использованием спиртового растворителя основано на способности растворов, содержащих низшие алифатические спирты (например, метанол, этанол, изопропиловый спирт), экстрагировать липиды и фракции растворимых сахаров без солюбилизации белков и/или за счет перевода белка в нерастворимое состояние путем денатурации. В определенных вариантах осуществления концентрация спирта, используемого в растворителе в процессе экстракции растворителем, составляет по меньшей мере около 10%, по меньшей мере около 20%, по меньшей мере около 30%, по меньшей мере около 40%, по меньшей мере около 50%, по меньшей мере около 60%, по меньшей мере около 70%, по меньшей мере около 80%, по меньшей мере около 90%, по меньшей мере около 95% или по меньшей мере около 99% по массе.

[101] Начиная с влажной или сухой микробной биомассы, полученной, как описано в данном документе, в определенных вариантах осуществления процесс концентрирования белка включает одну или более из следующих стадий: твердо-жидкостная экстракция, удаление и восстановление растворителя из жидкого экстракта, удаление и восстановление растворителя из твердого вещества (например, белковый концентрат) и сушка и измельчение твердого вещества (например, белковый концентрат).

[102] В определенных вариантах осуществления твердожидкостную экстракцию проводят периодически или непрерывно. В определенных вариантах осуществления

твердожидкостная экстракция осуществляется с использованием одного или нескольких из: горизонтальных ленточных экстракторов; корзиночных экстракторов; стационарных экстракторов и/или роторных клеточных экстракторов.

[103] Термическая обработка может сделать сахара менее растворимыми за счет связывания их с белками (например, реакция Майяра) или за счет карамелизации. Такие реакции конденсации могут сделать сахара менее экстрагируемыми растворителем. Они также могут привести к более темному цвету концентратов, что может быть нежелательно в некоторых случаях применения. В определенных вариантах осуществления термообработку проводят только после экстракции растворителем. В определенных вариантах осуществления используемый процесс белкового концентрата позволяет избежать возникновения реакции Майяра.

[104] В определенных вариантах осуществления неполярный растворитель используют на стадии экстракции растворителем. В определенных вариантах осуществления неполярный растворитель используется в комбинации со спиртовым растворителем. В определенных вариантах осуществления неполярный растворитель используется в комбинации с водно-спиртовым раствором. В определенных вариантах осуществления неполярный растворитель используется для извлечения нейтральных липидов из экстракта, полученного с использованием спирта и/или водно-спиртового раствора. В определенных неограничивающих вариантах осуществления используется неполярный растворитель, имеющий диапазон температур кипения (т.е. диапазон перегонки) от 65 °C до 70°C. В определенных неограничивающих вариантах осуществления используется неполярный растворитель, который состоит в основном из шестиуглеродных алканов. В определенных вариантах осуществления гексан используется как неполярный растворитель. В определенных таких вариантах осуществления гексан, используемый в качестве неполярного растворителя, соответствует строгим требованиям к качеству, необходимым для экстракции пищевых масел из соевых бобов и других растительных источников, включая, помимо прочего: диапазон кипения (перегонки), максимальный нелетучий остаток, температура вспышки, максимальное количество серы, максимальное количество циклических углеводородов, цвет и удельный вес.

[105] В определенных вариантах осуществления «сверхкритическая экстракция» с использованием жидкого диоксида углерода под высоким давлением используется для экстракции растворителем.

[106] Известно, что ограничивающим скорость процессом при экстракции биологических материалов растворителем часто является диффузия. По этой причине обычно значительные усилия и энергия направляются на уменьшение размера извлекаемой

биомассы. Например, соевые бобы и семена масличных культур часто раскатывают в тонкие хлопья, уменьшая таким образом одно измерение для облегчения диффузии. В определенных вариантах осуществления микроскопические размеры одноклеточных микроорганизмов, как описано в данном документе, устраняют необходимость выполнения какого-либо уменьшения размера перед экстракцией растворителем. В определенных вариантах осуществления экстракция растворителем более эффективна, т. е. требует меньшего количества растворителя и/или извлекает более высокий процент экстрагируемого растворенного вещества, чем сравнимая экстракция растворителем, проводимая на биомассе высших растений или животных.

[107] В определенных вариантах осуществления клеточная масса, т.е. микробная биомасса, полученная, как описано в данном документе, хранится в жидкой суспензии при экстракции растворителем или, если она высушена, подается в виде сыпучей массы с открытой пористой структурой в процесс экстракции растворителем.

[108] В определенных вариантах осуществления скорость экстракции повышают путем применения одного или нескольких перемешиваний и/или повышения температуры. Более высокая температура может привести к более высокой растворимости экстрагируемого материала (например, липидов) и/или более высоким коэффициентам диффузии.

[109] Безводные (абсолютные) низшие алифатические спирты, такие как этанол или изопропанол, являются довольно хорошими растворителями липидов при высокой температуре, но растворимость масел в этих растворителях резко снижается при понижении температуры. В определенных вариантах осуществления экстракция липидов происходит при высокой температуре одним или более спиртами, включая, но не ограничиваясь ими, этанол, изопропанол и/или метанол. В определенных таких вариантах осуществления липидный экстракт охлаждается, и происходит липидное насыщение. В определенных таких вариантах осуществления избыток липидов отделяется в виде отдельной фазы, которую можно выделить с помощью процесса разделения твердой и жидкой фаз, такого как центрифугирование, но не ограничиваясь им. В определенных таких вариантах осуществления растворитель, то есть спирт (спирты), повторно нагревают и отправляют обратно для экстракции растворителем.

[110] Когда для переноса экстрагируемого вещества из твердого вещества используется градиент концентрации, поддержание высокого градиента может облегчить процесс экстракции. В определенных вариантах осуществления для использования этого эффекта используется принцип противоточной многоступенчатой экстракции. В определенных вариантах осуществления процесс экстракции растворителем делится на несколько контактных стадий. В определенных вариантах осуществления каждая стадия включает

смешивание твердого вещества, например, микробной биомассы и/или белкового концентрата, и фаз растворителя, и после экстракции достигается разделение двух потоков. В определенных вариантах осуществления при переходе от одной стадии к другой твердые вещества, например, микробная биомасса и/или белковый концентрат, и растворитель текут в противоположных направлениях. Таким образом, микробная биомасса и/или белковый концентрат с наименьшим содержанием экстрагируемых веществ (например, липидов) контактируют с самым бедным растворителем, что приводит к более высокому выходу экстрагируемых веществ (например, выходу липидов) и высокой движущей силе в экстракторе.

[111] В определенных вариантах осуществления экстракцию растворителем проводят с использованием экстракторов периодического, полунепрерывного и/или непрерывного действия.

[112] В периодических процессах определенное количество микробной биомассы и/или биологического материала контактирует с определенным объемом свежего растворителя. В определенных вариантах осуществления экстракт сливают, перегоняют, а растворитель рециркулируют через экстрактор до тех пор, пока остаточное экстрагируемое содержание (например, содержание липидов) в партии микробной биомассы и/или биологического материала не уменьшится до целевого уровня.

[113] В определенных вариантах осуществления используется полунепрерывная система экстракции растворителем, состоящая из нескольких последовательно соединенных экстракторов периодического действия. В определенных таких вариантах осуществления растворитель и/или экстракт перетекают из одного экстрактора в следующий в ряду. В определенных неограничивающих вариантах осуществления используется французский стационарный корзиночный экстрактор.

[114] В определенных вариантах осуществления используется процесс непрерывной экстракции растворителем, при котором микробная биомасса и/или биологический материал, и/или белковый концентрат и растворитель непрерывно подаются в экстрактор. В определенных вариантах осуществления один или более из: ленточных экстракторов, таких как экстрактор De Smet, но не ограничиваясь ими; экстракторов с подвижной корзиной, таких как экстракторы с подвижной корзиной Lurgi или экстрактор HLS T.O.M. (переворачивание материала); и/или карусельных экстракторов используются для экстракции растворителем.

[115] В определенных вариантах осуществления белковый концентрат, полученный в соответствии с настоящим изобретением, имеет остаточное содержание липидов не более около 0,6% по массе, от около 0,25% до около 0,6% по массе или не более около 0,25% по

массе. В определенных вариантах осуществления концентрирования белка, как описано в данном документе, которые используют экстракцию растворителем, потери растворителя на экстракцию составляют не более около 0,3% на экстракцию, или от около 0,07% до около 0,3% на экстракцию, или не более около 0,07% на экстракцию.

[116] В определенных вариантах осуществления по меньшей мере два потока покидают стадию экстракции растворителем, в том числе: поток экстракта (например, липидного экстракта) и поток твердого вещества (например, белкового концентрата). В определенных таких вариантах осуществления поток твердого вещества содержит остатки растворителя. В определенных вариантах осуществления один или более процессов используются для удаления и извлечения растворителя из одного или другого или обоих потоков.

[117] В определенных вариантах осуществления спирты удаляют из жидкого экстракта выпариванием и очищают перегонкой. В определенных таких вариантах осуществления спирты затем доводят до надлежащей концентрации для дальнейшей экстракции. В определенных таких вариантах осуществления извлеченный растворитель рециркулируют через экстрактор. В определенных вариантах осуществления остаток после перегонки включает липиды и/или водный раствор, содержащий нуклеиновые кислоты, сахара и/или другие растворимые вещества. В определенных вариантах осуществления водный остаток концентрируют примерно до 50% общего содержания растворимых твердых веществ. В определенных вариантах осуществления липиды и/или водный остаток используют в качестве калорийного ингредиента и/или в качестве связующего вещества в кормах для животных. В определенных вариантах осуществления липиды и/или водные остатки возвращают в биореактор. В определенных вариантах осуществления липиды и/или водные остатки возвращают в биореактор, где их можно использовать для миксотрофного роста. В определенных таких случаях миксотрофный рост включает рост на H_2 и органических субстратах, включая, но не ограничиваясь ими, липиды и/или нуклеиновые кислоты. В определенных вариантах осуществления экстракт содержит 30% или менее липидов. В определенных вариантах осуществления на каждую тонну извлеченных липидов перегонкой извлекается примерно 2,5 тонны растворителя. В определенных вариантах осуществления используют один или более методов удаления растворителя, таких как, но не ограничиваясь ими: мгновенное испарение, вакуумная перегонка и/или отгонка паром.

[118] В определенных вариантах осуществления растворители удаляют из твердого вещества, полученного в результате одной или нескольких стадий экстракции растворителем. В определенных вариантах осуществления мгновенная десольвентизация используется для удаления остатков растворителя. В определенных вариантах

осуществления перегретые пары смеси спирта и воды наносят на белковые концентраты, полученные, как описано в данном документе. В определенных вариантах осуществления паровая дистилляция используется для удаления остатков растворителя или следов растворителя из твердых веществ, образующихся в результате экстракции растворителем. В определенных таких вариантах осуществления указанные твердые вещества, извлеченные из экстракции растворителем, используют для получения белкового концентрата. В определенных вариантах осуществления десольвентизация твердых веществ, извлеченных из экстракции растворителем, осуществляется посредством мгновенной десольвентизации (FD). В определенных таких вариантах осуществления твердые вещества с остатками растворителя, выходящие из экстрактора, псевдооживаются в потоке перегретых паров растворителя, где перегрев пара обеспечивает энергию для испарения растворителя из твердых веществ. В определенных таких вариантах осуществления турбулентный характер потока твердого тела и пара способствует быстрому переносу тепла и массы. В определенных вариантах осуществления короткая стадия отгонки используется для полного удаления растворителя. В определенных вариантах осуществления быстрое охлаждение следует за удалением остаточных растворителей. В определенных вариантах осуществления любой избыток воды, остающийся в белковом концентрате после десольвентизации, удаляют такими способами, как, помимо прочего, сушка горячим воздухом, сушка горячими инертными газами, вакуумная сушка или лиофилизация.

[119] В определенных вариантах осуществления кислотная обработка или процесс кислотной промывки используются для осаждения белков из раствора, а осажденный белок используется для получения белкового концентрата. В определенных вариантах осуществления рН бульона или биомассы или лизата биомассы, выходящего из биореактора, составляет примерно рН = 7 или примерно в диапазоне рН от 6 до 8. Белки обычно демонстрируют минимальную растворимость в воде в диапазонах рН, соответствующих изоэлектрическому диапазону белка. В определенных вариантах осуществления изоэлектрический диапазон белков, полученных, как описано в данном документе (например, белков, полученных с использованием источника углерода CO_2), возникает при рН менее 6 или в диапазоне от рН 3 до рН 6, от рН 4 до рН 5, от рН 4,2 до 4,5, или при рН около 4, или около рН 4,2, или около рН 4,5. В определенных вариантах осуществления кислота, такая как, но не ограничиваясь ими, одна или более из следующих: фосфорная кислота, серная кислота, соляная кислота, уксусная кислота и/или угольная кислота/ CO_2 (водная), используется для снижения рН культурального бульона, и/или биомассы, и/или лизата биомассы до изоэлектрического диапазона. В определенных

вариантах осуществления белки осаждают путем понижения рН до изоэлектрического диапазона, а нуклеиновые кислоты, сахара и/или другие растворимые небелки экстрагируют, используя в качестве растворителя воду, к которой добавлена кислота, чтобы поддерживать рН в изоэлектрическом диапазоне. В определенных вариантах осуществления ротационные вакуумные фильтры или декантирующие центрифуги используются для разделения твердой и жидкой фаз с твердыми веществами, содержащими осажденный белок.

[120] В определенных вариантах осуществления лизированную или обезжиренную микробную биомассу, полученную, как описано в данном документе, смешивают с подкисленной водой в сосуде для перемешивания. В определенных таких вариантах осуществления затем суспензию подают в декантерную центрифугу, которая отделяет экстрагированные твердые вещества от экстракта. В определенных таких вариантах осуществления твердые вещества непрерывно выгружаются из декантерной центрифуги. В определенных таких вариантах осуществления откинутые твердые частицы имеют около 10%, около 20%, около 30% или от около 10% до около 30% по массе сухого вещества. В определенных таких вариантах осуществления извлеченные таким образом твердые вещества сушат с получением концентрата изоэлектрического белка. В определенных вариантах осуществления изоэлектрический твердый осадок ресуспендируется в воде и кислотность нейтрализуется, а на второй стадии центробежного разделения образуется осадок нейтрального белкового концентрата. В определенных таких вариантах осуществления белковый концентрат имеет содержание белка по меньшей мере около 60%, по меньшей мере около 70%, по меньшей мере около 75% или по меньшей мере около 80% по массе в пересчете на сухое вещество.

[121] В определенных вариантах осуществления растворимость белка нейтрализованного продукта, на которую указывает индекс растворимости азота (NSI), составляет NSI по меньшей мере около 40%, по меньшей мере 50%, по меньшей мере 60% или значение NSI больше около 60%.

[122] В определенных вариантах осуществления жидкий экстракт, содержащий растворимые компоненты, такие как нуклеиновые кислоты, сахара, минералы и белковые фракции, растворимые при рН менее 6, рН от 3 до 6, рН менее 5, рН около 4,5 или рН от 4 до 5, возвращается в исходный биореактор и/или в другой биореактор для производства миксотрофной или гетеротрофной микробной биомассы. В определенных таких вариантах осуществления производится дополнительная белковая биомасса.

[123] В определенных вариантах осуществления при производстве белкового концентрата используется процесс тепловой денатурации и/или экстракции водой. В определенных

вариантах осуществления белки, полученные, как описано в данном документе, становятся нерастворимыми путем термической денатурации с использованием влажного тепла. В определенных вариантах осуществления микробную биомассу, полученную, как описано в данном документе, нагревают в кипящей воде, или в скороварке, или в автоклаве. В определенных вариантах осуществления микробную биомассу, полученную, как описано в данном документе, подвергают непрерывной высокотемпературной кратковременной влажной тепловой обработке с использованием, например, экструдера-варочного аппарата. В определенных вариантах осуществления термическая обработка микробной биомассы включает воздействие на биомассу температур по меньшей мере около 90°C, по меньшей мере около 100°C, по меньшей мере около 110°C, по меньшей мере около 120°C, по меньшей мере около 130°C или по меньшей мере около 140°C, или температур от около 100°C до около 121°C, или температур максимум 150°C. В определенных вариантах осуществления продолжительность термической обработки составляет по меньшей мере около 5 минут, по меньшей мере около 10 минут, по меньшей мере около 15 минут, по меньшей мере около 30 минут, по меньшей мере около 45 минут или по меньшей мере около одного часа, по меньшей мере около трех часов, по меньшей мере около пяти часов или около 24 часов, или продолжительность составляет менее около 48 часов или менее около 72 часов. В определенных вариантах осуществления термически обработанную микробную биомассу, полученную, как описано в данном документе, экстрагируют горячей водой, которая растворяет нуклеиновые кислоты, сахара и/или другие нерастворимые в белке вещества. В определенных вариантах осуществления после термической обработки и денатурации белка для отделения твердых денатурированных белков от нерастворимых белков используют этапы разделения твердой и жидкой фаз, хорошо известные в науке о производстве белковых концентратов из сои и других растительных источников белка. Примеры оборудования и процессов, которые могут быть использованы в настоящем изобретении для отделения богатых белком твердых веществ от жидкости, обедненной белком, включают, но не ограничиваются этим, один или более из следующих: ротационные вакуумные фильтры, декантирующие центрифуги, центрифуги непрерывного действия и ленточные прессы.

[124] В определенных вариантах осуществления богатые белком твердые вещества (т.е. осадок), полученные с помощью одного или нескольких ранее описанных процессов, а именно одного или нескольких из: экстракции растворителем, тепловой денатурации и кислотного/изоэлектрического осаждения, пропускают через экструдер. В определенных таких вариантах осуществления экструдат охлаждают, а затем измельчают.

[125] В определенных вариантах осуществления богатые белком твердые вещества (например, осадок) и/или экструдат, полученные с помощью одного или нескольких ранее описанных процессов, в частности, одного или нескольких из: экстракции растворителем, тепловой денатурации и кислотного/изоэлектрического осаждения, необязательно с последующей экструзией, высушивали с использованием процессов сушки, хорошо зарекомендовавших себя при производстве белковых концентратов из соевых бобов и других растительных источников. В определенных вариантах осуществления богатый белком осадок измельчается мокрым помолом до мелкой суспензии. В определенных таких вариантах осуществления суспензию затем сушат распылением. В определенных вариантах осуществления богатый белком осадок на фильтре или экструдат лиофилизируют. В определенных вариантах осуществления богатый белком осадок или экструдат сушат в сушилках с принудительной циркуляцией. В определенных вариантах осуществления богатый белком осадок или экструдат сушат до содержания влаги около 10% или меньше.

[126] В определенных вариантах осуществления богатый белком осадок или экструдат измельчают в мелкий порошок. В определенных таких вариантах осуществления, по меньшей мере около 97% измельченного продукта проходит через стандартное сито с размером ячеек 100 меш. В других вариантах осуществления настоящего изобретения богатый белком осадок или экструдат преобразуются в форму крупы с более крупным гранулированием. В определенных вариантах осуществления богатый белком осадок или экструдат превращают в порошок или крупу с использованием одного или нескольких из следующих способов: молотковые мельницы, штифтовые мельницы, ударные турбомельницы и/или аналогичные измельчители. В определенных указанных вариантах осуществления не более чем около 3% измельченного продукта удерживается сеткой 100 меш. В определенных вариантах осуществления система воздушной классификации используется для отделения мелкого продукта от крупных фракций. В определенных вариантах осуществления крупные фракции возвращаются обратно через мельницу или измельчитель.

[127] В определенных вариантах осуществления конечная форма белкового концентрата, полученного в результате описанного в данном документе процесса, представляет собой гранулы, или мукообразные, или высушенные распылением, или текстурированные.

[128] В определенных вариантах осуществления белковый концентрат, полученный, как описано в данном документе, содержит менее около 1% липидов по массе. В других вариантах осуществления белковый концентрат, полученный, как описано в данном документе, содержит менее около 20%, менее около 15%, менее около 10% или менее около

5% липидов по массе. В определенных вариантах осуществления содержание липидов в белковом концентрате, полученном, как описано в данном документе, варьируется от около 1% до около 10% по массе, или в определенных вариантах осуществления от около 4,5% до около 9% или от около 5% до около 6%.

[129] В определенных вариантах осуществления масло или жир на растительной основе смешивают с белковым концентратом, полученным, как описано в данном документе, где общее содержание липидов в белковом концентрате и составе растительного масла или жира варьируется от около 4,5% до около 9%, от около 5% до около 6%, от около 9% до около 15% или от около 15% до около 20% по массе. В определенных вариантах осуществления указанный состав белкового концентрата и растительного масла или жира имеет общее содержание липидов около 15% по массе.

[130] В определенных вариантах осуществления лецитин, такой как, но не ограничиваясь этим, соевый лецитин или яичный лецитин, комбинируют с белковым концентратом, полученным, как описано в данном документе. В определенных таких вариантах осуществления добавление лецитина повышает диспергируемость и эмульгирующие свойства белкового концентрата. В определенных таких вариантах осуществления содержание лецитина в составе, включающем белковый концентрат и лецитин, варьируется до около 15% по массе.

[131] В определенных вариантах осуществления содержание масла и/или фосфолипидов в микробной биомассе, полученной, как описано в данном документе, обладает эффектами яичного типа и/или типа кулинарного жира и может действовать как эмульгатор.

[132] Известно, что высокое содержание липидов в белковом концентрате может привести к плохой стабильности при хранении. В определенных вариантах осуществления производится белковый концентрат с низким содержанием липидов с повышенной стабильностью при хранении.

[133] В определенных вариантах осуществления белковый концентрат, полученный, как описано в данном документе, может иметь NSI до около 80%, около 70%, около 60%, около 50%, около 40%, около 30%, около 20% или около 10%. В определенных вариантах осуществления белковый концентрат, полученный, как описано в данном документе, может иметь NSI от около 10% до около 20%, от около 10% до около 30%, от около 20% до около 30% или от около 10% до около 15%.

[134] В определенных вариантах осуществления диспергируемость и функциональность белкового концентрата увеличиваются за счет впрыска пара или струйной варки и/или за счет гомогенизации с высоким усилием сдвига.

Белковые гидролизаты

[135] В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере часть, весь или практически весь белковый продукт получают путем гидролиза белка (например, одноклеточного белка, клеточного лизата, белкового концентрата, белкового изолята и/или белкового экстракта) из по меньшей мере одного микроорганизма, описанного в данном документе. Например, гидролиз клеточного белка может давать пептиды, олигопептиды и/или свободные аминокислоты.

[136] Гидролиз микробного белка может осуществляться кислотными, основными и/или ферментативными процессами. Способы гидролиза белка хорошо известны в данной области техники. Неограничивающие примеры способов гидролиза микробного белка и композиций гидролизата можно найти в предварительных заявках США № 62/901169 и 62/943754, а также в заявке РСТ № US20/50902, которые полностью включены в данный документ посредством ссылки.

[137] В некоторых вариантах осуществления способ гидролиза может включать повышение или понижение рН белковой суспензии, например, суспензии микробной биомассы, с получением, таким образом, щелочной или кислой суспензии соответственно. Исходная суспензия биомассы может включать подходящее количество биомассы в жидкости, например, микробной биомассы в среде для выращивания. В некоторых вариантах осуществления количество биомассы, сухой массы/реакционного объема составляет по меньшей мере около 0,01%, по меньшей мере около 0,2%, по меньшей мере около 0,5%, по меньшей мере около 1%, по меньшей мере около 2% или по меньшей мере около 3%, или от около 0,1% до около 8%, *например*, от около 0,2% до около 8%, от около 0,5% до около 6%, от около 1% до около 6%, от около 2% до около 6%, от около 3% до около 5%, от около 4% до около 8%, от около 6% до около 8%, от около 5% до около 7% или от около 5% до около 8%.

[138] В некоторых вариантах осуществления клетки микроорганизмов в биомассе подвергают лизису в начале процесса, например, перед повышением или понижением рН, для облегчения выделения белка из биомассы в суспензионную композицию.

[139] В определенных вариантах осуществления щелочную или кислотную суспензию можно подвергать нагреванию в течение подходящего периода времени для получения композиции белкового гидролизата. Суспензия может быть сконцентрирована, высушена (например, лиофилизована) или использована непосредственно в виде жидкой суспензии. В определенных вариантах осуществления щелочную или кислотную суспензию подвергают нагреванию и повышенному давлению, например, автоклавированием щелочной или кислотной суспензии для получения композиции

белкового гидролизата. В некоторых вариантах осуществления суспензию нейтрализуют буфером для снижения или повышения pH после обработки нагреванием или нагреванием/давлением. В определенных вариантах осуществления pH снижается (для щелочной суспензии) или повышается (для кислой суспензии) настолько, чтобы обеспечить последующую ферментативную обработку суспензии гидролитическим ферментом, таким как протеаза (например, щелочная протеаза, кислая протеаза или металлопротеаза). После ферментативного гидролиза получают композицию на основе белкового гидролизата. В других вариантах осуществления суспензию биомассы гидролизуют протеолитическим ферментом, таким как протеаза (например, щелочная протеаза, кислая протеаза или металлопротеаза), без предварительной обработки щелочью или кислотой.

[140] В определенных вариантах осуществления гидролизованный белок в белковом гидролизате находится преимущественно в растворимой фракции суспензии. Полученную суспензию можно осветлить, например, центрифугированием, чтобы получить надосадочную фракцию, содержащую гидролизованный белок. В некоторых вариантах осуществления за гидролитической обработкой (например, щелочным или кислотным гидролизом, необязательно включая ферментативную (например, протеазную) обработку или только ферментативный гидролиз) следует осветление суспензии (гидролизата) для удаления нерастворенного материала в суспензии, например, разделение растворимых и нерастворимых фракций. Суспензию можно осветлить с использованием любого подходящего метода, такого как центрифугирование, фильтрация и т. д. В некоторых вариантах осуществления после осветления суспензии, например, центрифугирования, надосадочную жидкость можно отделить от осадка.

[141] В некоторых вариантах осуществления осветленную жидкую композицию (например, растворимую фракцию, такую как надосадочная жидкость отделенной суспензии), которая содержит гидролизованный белок, сушат, например, лиофилизируют, чтобы получить сухую или практически сухую композицию. В некоторых вариантах осуществления лиофилизированная композиция имеет содержание воды около 10% или меньше, *например*, около 8% или меньше, около 6% или меньше, около 5% или меньше или около 3% или меньше. В некоторых вариантах осуществления композиция на основе лиофилизованного белкового гидролизата имеет содержание воды от около 1% до около 10%, *например*, от около 1% до около 8%, от около 1% до около 6%, от около 2% до около 5%, от около 2% до около 6%, от около 3% до около 5%, от около 4% до около 8%, от около 6% до около 8%, от около 5% до около 7% или от около 5% до около 8%.

[142] В некоторых вариантах осуществления осветленную жидкую композицию (например, растворимую фракцию, такую как надосадочная жидкость отделенной

суспензии) обезвоживают или концентрируют для снижения содержания воды. В некоторых вариантах осуществления концентрированная композиция имеет содержание воды около 80% или меньше, *например*, около 75% или меньше, около 50% или меньше, около 40% или меньше или около 30% или меньше; и в некоторых вариантах осуществления каждый из вышеуказанных диапазонов содержания воды может составлять по меньшей мере около 20%, по меньшей мере около 25%, по меньшей мере около 30%, по меньшей мере около 40% или по меньшей мере около 50% (в той мере, в какой указанные выше диапазоны превышают такие нижние пределы). В некоторых вариантах осуществления обезвоженный продукт сушат, например, с использованием нагревания и/или выпаривания, используя такой способ, как, но не ограничиваясь этим, один или более из распылительной сушки; барабанной сушки; сушки в печи; вакуумной сушки; сушки в вакуумной печи; сушки в инертном газе, таком как N₂; и солнечного испарения. В некоторых вариантах осуществления осветленный продукт сначала обезвоживают с помощью роторного испарителя, например, так, что удаляется от около 50% до около 65% или более влаги. В некоторых вариантах осуществления дополнительное обезвоживание достигается путем лиофилизации, например, таким образом, что композиция на основе лиофилизированного белкового гидролизата имеет содержание воды от около 1% до около 10%, *например*, от около 1% до около 8%, от около 1% до около 6%, от около 2% до около 5%, от около 2% до около 6%, от около 3% до около 5%, от около 4% до около 8%, от около 6% до около 8%, от около 5% до около 7% или от около 5% до около 8%.

[143] В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере часть или весь белок, из которого получают гидролизат белка (например, одноклеточный белок, клеточный лизат, белковый концентрат, белковый изолят и/или белковый экстракт), получен из микроорганизма *Cupriavidus*, такого как, но не ограничиваясь этим, *Cupriavidus necator*, например, DSM 531 или DSM 541. В некоторых вариантах осуществления композиция белкового гидролизата (например, содержащая пептиды, олигопептиды и/или свободные аминокислоты) получена из белка из микроорганизма *Cupriavidus*, например, но не ограничиваясь ими, *Cupriavidus necator*, *например*, DSM 531 или DSM 541.

[144] В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере часть, весь или практически весь белок, из которого получают белковый гидролизат (например, одноклеточный белок, клеточный лизат, белковый концентрат, белковый изолят и/или белковый экстракт), получен из молочнокислой бактерии, такой как, но не ограничиваясь ими, бактерии *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Streptococcus* или *Pediococcus*. В некоторых вариантах осуществления композиция белкового гидролизата (например, содержащая пептиды, олигопептиды и/или свободные аминокислоты) получена из белка

молочнокислой бактерии, такой как, но не ограничиваясь ими, бактерии *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Streptococcus* или *Pediococcus*. В некоторых вариантах осуществления молочнокислая бактерия является бактерией GRAS.

[145] В некоторых вариантах осуществления по меньшей мере часть или весь белок, из которого получают белковый гидролизат (например, одноклеточный белок, клеточный лизат, белковый концентрат, белковый изолят и/или белковый экстракт), получен от грибкового микроорганизма *Fusarium*, *Rhizopus* или *Aspergillus*, например, но без ограничения, *Fusarium venenatum*, *Rhizopus oligosporus*, *Rhizopus oryzae*, *Aspergillus oryzae* или *Aspergillus sojae*. В некоторых вариантах осуществления композиция на основе белкового гидролизата (например, содержащая пептиды, олигопептиды и/или свободные аминокислоты) получена из белка от грибкового микроорганизма *Fusarium*, *Rhizopus* или *Aspergillus*, например, но без ограничения, *Fusarium venenatum*, *Rhizopus oligosporus*, *Rhizopus oryzae*, *Aspergillus oryzae* или *Aspergillus sojae*.

[146] В некоторых вариантах осуществления белковые гидролизаты в данном документе включают пептиды, которые содержат или состоят из пептидов, размеры которых обычно не вызывают аллергии, например, не вызывают аллергии у человека. В некоторых вариантах осуществления белковые гидролизаты, которые включаются в пищевые композиции, как описано в данном документе, включают пептиды и свободные аминокислоты, причем пептиды имеют такой размер, чтобы не вызывать аллергию. В некоторых вариантах осуществления неаллергенные пептиды имеют размер в диапазоне от около 800 до около 1500 Да, среднее распределение молекулярной массы. Например, пептиды, полученные путем гидролиза белка, как описано в данном документе, могут иметь среднюю молекулярную массу меньше любой из около 1500, 1400, 1300, 1200, 1100, 1000, 900 или 800 Да.

[147] В некоторых вариантах осуществления соли удаляют из белковых гидролизатов (например, когда для гидролиза используют кислые или щелочные соли) перед включением гидролизата в пищевую композицию, как описано в данном документе. Например, белковый гидролизат может быть очищен фильтрацией (например, ультрафильтрацией) или диализом для удаления солей и/или других примесей.

Микроорганизмы

[148] Белковый материал (белковый продукт, описанный в данном документе), используемый в способах и включенный в композиции, описанные в данном документе, получают из одного или нескольких микроорганизмов. Микробные организмы, из которых получают одноклеточный белок, клеточный лизат, белковый концентрат, белковый изолят,

белковый гидролизат, свободные аминокислоты, пептиды, олигопептиды или их комбинации, могут быть фотоаутоотрофными, гетеротрофными, метанотрофными, метилотрофными, карбоксидотрофными или хемоаутоотрофными организмами. В некоторых вариантах осуществления микробные организмы включают кислородно-водородный микроорганизм. Микробные организмы могут быть дикого типа или могут быть генетически модифицированными (например, рекомбинантными) или их комбинацией.

[149] Микробную биомассу можно собирать из культуры одного или нескольких подходящих микроорганизмов, например, в ферментере или биореакторе. Биомасса может быть собрана с использованием любого подходящего метода, такого как центрифуга, для отделения клеточной массы от культуральной среды. В некоторых вариантах осуществления собранную биомассу можно использовать для получения композиции белкового гидролизата. В некоторых вариантах осуществления собранную биомассу сушат распылением или лиофилизируют для получения сухой биомассы, которую затем можно использовать в качестве ингредиента для производства пищевой композиции, как описано в данном документе, или для получения композиции белкового гидролизата. В некоторых вариантах осуществления белковый продукт (например, одноклеточный белок, клеточный лизат, белковый экстракт, экстракт, содержащий белок, белковый концентрат, белковый изолят, белковый гидролизат, свободные аминокислоты, пептиды, олигопептиды или их комбинации) получают из собранной биомассы.

[150] В некоторых вариантах осуществления микроорганизмы или их белковый продукт включают штамм рода *Cupriavidus*, или *Ralstonia*, или *Hydrogenobacter*. В некоторых вариантах осуществления микроорганизмы включают вид *Cupriavidus necator* или *Cupriavidus metallidurans*. В некоторых вариантах осуществления микроорганизмы включают штамм вида *Cupriavidus necator* DSM 531 или DSM 541. В некоторых вариантах осуществления микроорганизмы включают вид *Cupriavidus metallidurans*. В некоторых вариантах осуществления микроорганизмы включают штамм вида *Cupriavidus metallidurans* DSM 2839.

[151] В некоторых вариантах осуществления микроорганизмы или их белковый продукт включают штамм рода *Xanthobacter*. В некоторых вариантах осуществления микроорганизмы включают вид *Xanthobacter autotrophicus*. В некоторых вариантах осуществления микроорганизмы включают штамм вида *Xanthobacter autotrophicus* DSM 432.

[152] В некоторых вариантах осуществления микроорганизмы или их белковый продукт включают микроорганизм *Rhodococcus* или *Gordonia*. В некоторых вариантах

осуществления микроорганизмы включают *Rhodococcus opacus*. В некоторых вариантах осуществления микроорганизмы включают *Rhodococcus opacus* (DSM 43205) или *Rhodococcus sp.* (DSM 3346). В некоторых вариантах осуществления микроорганизмы включают *Rhodococcus opacus*; *Hydrogenovibrio marinus*; *Rhodopseudomonas capsulata*; *Hydrogenobacter thermophilus* или *Rhodobacter sphaeroides*. В некоторых вариантах осуществления микроорганизмы включают штамм из семейства burkholderiaceae.

[153] В некоторых вариантах осуществления микроорганизмы или их белковый продукт включают кисломолочную бактерию, например, но не ограничиваясь ими, бактерии *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Streptococcus* или *Pediococcus*. В некоторых вариантах осуществления молочнокислая бактерия является бактерией GRAS.

[154] В некоторых вариантах осуществления микроорганизмы или их белковый продукт включают грибковый микроорганизм *Fusarium*, *Rhizopus* или *Aspergillus*, например, но не ограничиваясь ими, *Fusarium venenatum*, *Rhizopus oligosporus*, *Rhizopus oryzae*, *Aspergillus oryzae* или *Aspergillus sojae*. В некоторых вариантах осуществления грибковый микроорганизм представляет собой микроорганизм GRAS.

[155] В некоторых вариантах осуществления объединение микроорганизмов (т.е. два или более микроорганизмов, выращенных вместе) используют в качестве источника белкового продукта в способах и композициях, описанных в данном документе. Объединение может включать один или более любых видов или штаммов микроорганизмов, описанных в данном документе, или один или более микроорганизмов, обладающих одним или более признаками микроорганизмов, описанными в данном документе. В некоторых вариантах осуществления объединение включает два или более любых видов или штаммов микроорганизмов, описанных в данном документе, или два или более микроорганизмов, имеющих один или более признаков микроорганизмов, описанных в данном документе.

[156] В некоторых вариантах осуществления описанный в данном документе микроорганизм может накапливать белок до около 50% или более от общей клеточной массы по массе. В некоторых вариантах осуществления описанный в данном документе микроорганизм может накапливать белок до около 60% и более от общей клеточной массы по массе. В некоторых вариантах осуществления микроорганизм может накапливать белок до около 70% и более от общей клеточной массы по массе. В некоторых вариантах осуществления микроорганизм может накапливать белок до около 80% и более от общей клеточной массы по массе. В некоторых неограничивающих вариантах осуществления микроорганизм, проявляющий эти признаки, представляет собой микроорганизм *Cupriavidus*, например, *Cupriavidus necator*, например, *Cupriavidus necator* DSM 531 или DSM 541.

некоторых неограничивающих вариантах осуществления микроорганизм, проявляющий эти признаки, представляет собой микроорганизм *Cupriavidus*, например, *Cupriavidus necator*, например, *Cupriavidus necator* DSM 531 или DSM 541.

[158] В некоторых вариантах осуществления описанный в данном документе микроорганизм может природным образом расти на H_2/CO_2 , и/или сингазе, и/или генераторном газе. В некоторых вариантах осуществления микроорганизм может природным образом накапливать полигидроксиалканоаты (ПНА) (например, полигидроксибутират (ПНВ)) до около 50% или более клеточной биомассы по массе. В некоторых вариантах осуществления микроорганизм имеет нативную способность направлять большой поток углерода через промежуточный продукт метаболизма ацетил-СоА, что может приводить к биосинтезу жирных кислот наряду с рядом других синтетических путей, например, ПНА, например, ПНВ, синтезом и/или биосинтезом аминокислот. В некоторых вариантах осуществления микроорганизм, проявляющий эти признаки, представляет собой микроорганизм *Cupriavidus*, например, *Cupriavidus necator*, например, *Cupriavidus necator* DSM 531 или DSM 541. В некоторых вариантах осуществления микроорганизм не продуцирует и/или не накапливает ПНА (например, ПНВ).

[159] В некоторых неограничивающих вариантах осуществления микроорганизмы или их белковый продукт включают *Corynebacterium autotrophicum*. В некоторых неограничивающих вариантах осуществления микроорганизмы включают *Corynebacterium autotrophicum* и/или *Corynebacterium glutamicum*. В некоторых вариантах осуществления микроорганизмы включают *Hydrogenovibrio marinus*. В некоторых вариантах осуществления микроорганизмы включают *Rhodopseudomonas capsulata*, *Rhodopseudomonas palustris* или *Rhodobacter sphaeroides*.

[160] В некоторых вариантах осуществления микроорганизмы или их белковый продукт включают одно или более из следующих родов: *Cupriavidus*, *Rhodococcus*, *Hydrogenovibrio*, *Rhodopseudomonas*, *Hydrogenobacter*, *Gordonia*, *Arthrobacter*, *Streptomyces*, *Rhodobacter* и/или *Xanthobacter*.

[161] В некоторых вариантах осуществления микроорганизмы или их белковый продукт включают микроорганизм класса Actinobacteria. В некоторых вариантах осуществления к микроорганизмам относятся микроорганизмы подотряда corynebacterineae (*Corynebacterium*, *Gordoniaceae*, *Mycobacteriaceae* и *Nocardiaceae*). В некоторых вариантах осуществления микроорганизмы включают микроорганизм семейства Nocardiaceae. В некоторых вариантах осуществления микроорганизмы включают микроорганизмы, взятые из одной или нескольких из следующих классификаций: *Corynebacterium*, *Gordonia*,

Rhodococcus, *Mycobacterium* и *Tsukamurella*. В некоторых вариантах осуществления к микроорганизмам относятся микроорганизмы рода *Rhodococcus*, например, *Rhodococcus opacus*, *Rhodococcus aurantiacus*, *Rhodococcus baikomurensis*, *Rhodococcus boritolerans*, *Rhodococcus equi*, *Rhodococcus coprophilus*, *Rhodococcus corynebacterioides*, *Nocardia corynebacterioides* (синоним: *Nocardia corynebacterioides*), *Rhodococcus erythropolis*, *Rhodococcus fascians*, *Rhodococcus globerulus*, *Rhodococcus gordoniae*, *Rhodococcus jostii*, *Rhodococcus koreensis*, *Rhodococcus kroppenstedtii*, *Rhodococcus maanshanensis*, *Rhodococcus marinonascens*, *Rhodococcus opacus*, *Rhodococcus percolatus*, *Rhodococcus phenolicus*, *Rhodococcus polyvorum*, *Rhodococcus pyridinivorans*, *Rhodococcus rhodochrous*, *Rhodococcus rhodnii*, (синоним: *Nocardia rhodnii*), *Rhodococcus ruber* (синоним: *Streptothrix rubra*), *Rhodococcus* sp. RHA1; *Rhodococcus triatomae*, *Rhodococcus tukisamuensis*, *Rhodococcus wratislaviensis* (синоним: *Tsukamurella wratislaviensis*), *Rhodococcus yunnanensis* или *Rhodococcus zopfii*. В некоторых вариантах осуществления микроорганизмы включают штамм *Rhodococcus opacus* DSM 43205 или DSM 43206. В некоторых вариантах осуществления микроорганизмы включают штамм *Rhodococcus* sp. DSM 3346.

[162] В некоторых вариантах осуществления микроорганизмы или их белковый продукт включают микроорганизм (например, микроорганизм любого из родов или видов микроорганизмов, описанных в данном документе), который может естественным образом расти на H_2/CO_2 , и/или сингазе, и/или генераторном газе, и который может естественным образом накапливать липиды для любого из по меньшей мере около 10%, около 20%, около 30%, около 40%, около 50%, около 60%, около 70%, около 80% или более клеточной биомассы по массе. В некоторых вариантах осуществления микроорганизмы включают микроорганизм (например, микроорганизм любого из родов или видов микроорганизмов, описанных в настоящем документе), который обладает природной способностью направлять большой поток углерода по пути биосинтеза жирных кислот. В некоторых вариантах осуществления микроорганизм, проявляющий эти признаки, представляет собой микроорганизм *Rhodococcus*, например, *Rhodococcus opacus* (например, *Rhodococcus opacus* DSM 43205 или DSM 43206 или DSM 44193), или микроорганизм *Cupriavidus*, например, *Cupriavidus necator* (например, *Cupriavidus necator* DSM 531 или DSM 541).

[163] В некоторых вариантах осуществления микроорганизмы или их белковый продукт включают водородокислородный или водородокисляющий штамм. В некоторых вариантах осуществления микроорганизмы включают один или более из следующих водородокисляющих микроорганизмов: *Aquifex pyrophilus*, *Aquifex aeolicus*, или другой *Aquifex* sp.; *Cupriavidus necator* или *Cupriavidus metallidurans* или другой *Cupriavidus* sp.; *Corynebacterium autotrophicum* или другой *Corynebacterium* sp.; *Gordonia desulfuricans*,

Gordonia polyisoprenivorans, *Gordonia rubripertincta*, *Gordonia hydrophobica*, *Gordonia westfalica*, или другой *Gordonia sp.*; *Nocardia autotrophica*, *Nocardia opaca* или другой *Nocardia sp.*; пурпурные несерные фотосинтезирующие бактерии, включая, но не ограничиваясь ими, *Rhodobacter sphaeroides*, *Rhodopseudomonas palustris*, *Rhodopseudomonas capsulata*, *Rhodopseudomonas viridis*, *Rhodopseudomonas sulfoviridis*, *Rhodopseudomonas blastica*, *Rhodopseudomonas spheroides*, *Rhodopseudomonas acidophila* или другой *Rhodopseudomonas sp.*; *Rhodobacter sp.*, *Rhodospirillum rubrum* или другой *Rhodospirillum sp.*; *Rhodococcus opacus* или другой *Rhodococcus sp.*; *Rhizobium japonicum* или другой *Rhizobium sp.*; *Thiocapsa roseopersicina* или другой *Thiocapsa sp.*; *Pseudomonas facilis*, *Pseudomonas flava*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas hydrogenovora*, *Pseudomonas hydrogenothermophila*, *Pseudomonas palleronii*, *Pseudomonas pseudoflava*, *Pseudomonas saccharophila*, *Pseudomonas thermophile* или другой *Pseudomonas sp.*; *Hydrogenomonas pantotropha*, *Hydrogenomonas eutropha*, *Hydrogenomonas facilis* или другой *Hydrogenomonas sp.*; *Hydrogenobacter thermophiles*, *Hydrogenobacter halophilus*, *Hydrogenobacter hydrogenophilus* или другой *Hydrogenobacter sp.*; *Hydrogenophilus islandicus* или другой *Hydrogenophilus sp.*; *Hydrogenovibrio marinus* или другой *Hydrogenovibrio sp.*; *Hydrogenothermus marinus* или другой *Hydrogenothermus sp.*; *Helicobacter pylori* или другой *Helicobacter sp.*; *Xanthobacter autotrophicus*, *Xanthobacter flavus* или другой *Xanthobacter sp.*; *Hydrogenophaga flava*, *Hydrogenophaga palleronii*, *Hydrogenophaga pseudoflava* или другой *Hydrogenophaga sp.*; *Bradyrhizobium japonicum* или другой *Bradyrhizobium sp.*; *Ralstonia eutropha* или другой *Ralstonia sp.*; *Alcaligenes eutrophus*, *Alcaligenes facilis*, *Alcaligenes hydrogenophilus*, *Alcaligenes latus*, *Alcaligenes paradoxus*, *Alcaligenes ruhlandii* или другой *Alcaligenes sp.*; *Amycolata sp.*; *Aquaspirillum autotrophicum* или другой *Aquaspirillum sp.*; штамм *Arthrobacter 11/X*, *Arthrobacter methylotrophus* или другой *Arthrobacter sp.*; *Azospirillum lipoferum* или другой *Azospirillum sp.*; *Variovorax paradoxus* или другой *Variovorax sp.*; *Acidovorax facilis* или другой *Acidovorax sp.*; *Bacillus schlegelii*, *Bacillus tusciae*, другой *Bacillus sp.*; *Calderobacterium hydrogenophilum* или другой *Calderobacterium sp.*; *Derxia gummosa* или другой *Derxia sp.*; *Flavobacterium autothermophilum* или другой *Flavobacterium sp.*; *Microcyclus aquaticus* или другой *Microcyclus sp.*; *Mycobacterium gordoniae* или другой *Mycobacterium sp.*; *Paracoccus denitrificans* или другой *Paracoccus sp.*; *Persephonella marina*, *Persephonella guaymasensis* или другой *Persephonella sp.*; *Renobacter vacuolatum* или другой *Renobacter sp.*; *Seliberia carboxydohydrogena* или другой *Seliberia sp.*; *Streptomyces coelicoflavus*, *Streptomyces griseus*, *Streptomyces xanthochromogenes*, *Streptomyces thermocarboxydus* и другой *Streptomyces sp.*; *Thermocrinis ruber* или другой *Thermocrinis sp.*; *Wautersia sp.*; цианобактерии, включая, но не ограничиваясь ими,

Anabaena oscillarioides, *Anabaena spiroides*, *Anabaena cylindrica* или другой *Anabaena sp.*, и *Arthrospira platensis*, *Arthrospira maxima*, или другой *Arthrospira sp.*; зеленые водоросли, включая, но не ограничиваясь ими, *Scenedesmus obliquus* или другой *Scenedesmus sp.*, *Chlamydomonas reinhardii* или другой *Chlamydomonas sp.*, *Ankistrodesmus sp.*, и *Rhaphidium polymorphium* или другой *Rhaphidium sp.* В некоторых вариантах осуществления объединение микроорганизмов, которое включает кислородно-водородный микроорганизм, такой как любой из вышеуказанных кислородно-водородных микроорганизмов, используют для производства белкового продукта, как описано в данном документе.

[164] В некоторых вариантах осуществления микроорганизмы или их белковый продукт включают один или более из следующих родов: *Cupriavidus*; *Xanthobacter*; *Dietzia*; *Gordonia*; *Mycobacterium*; *Nocardia*; *Pseudonocardia*; *Arthrobacter*; *Alcanivorax*; *Rhodococcus*; *Streptomyces*; *Rhodopseudomonas*; *Rhodobacter* и *Acinetobacter*; или объединение микроорганизмов, которое включает один или более из этих родов микроорганизмов.

[165] В некоторых вариантах осуществления микроорганизмы или их белковый продукт включают одно или более из следующего: *Arthrobacter methylotrophus* DSM 14008; *Rhodococcus opacus* DSM 44304; *Rhodococcus opacus* DSM 44311; *Xanthobacter autotrophicus* DSM 431; *Rhodococcus opacus* DSM 44236; *Rhodococcus ruber* DSM 43338; *Rhodococcus opacus* DSM 44315; *Cupriavidus metallidurans* DSM 2839; *Cupriavidus necator* DSM 531; *Cupriavidus necator* DSM 541; *Rhodococcus aetherivorans* DSM 44752; *Gordonia desulfuricans* DSM 44462; *Gordonia polyisoprenivorans* DSM 44266; *Gordonia polyisoprenivorans* DSM 44439; *Gordonia rubripertincta* DSM 46039; *Rhodococcus percolatus* DSM 44240; *Rhodococcus opacus* DSM 43206; *Gordonia hydrophobica* DSM 44015; *Rhodococcus zopfii* DSM 44189; *Gordonia westfalica* DSM 44215; *Xanthobacter autotrophicus* DSM 1618; *Xanthobacter autotrophicus* DSM 2267; *Xanthobacter autotrophicus* DSM 3874; *Streptomyces coelicoflavus* DSM 41471; *Streptomyces griseus* DSM 40236; *Streptomyces sp.* DSM 40434; *Streptomyces xanthochromogenes* DSM 40111; *Streptomyces thermocarboxydus* DSM 44293; *Rhodobacter sphaeroides* DSM 158. В некоторых вариантах осуществления микроорганизмы или их белковый продукт включают объединение микроорганизмов, которое включает один или более из этих штаммов микроорганизмов, или один или более любых родов или видов микроорганизмов, раскрытых в данном документе.

[166] Охарактеризован ряд различных микроорганизмов, способных расти на монооксиде углерода в качестве донора электронов и/или источника углерода (т. е. карбоксидотрофные микроорганизмы). В некоторых случаях карбоксидотрофные микроорганизмы также могут

использовать H_2 в качестве донора электронов и/или расти миксотрофно. В некоторых случаях карбоксидотрофные микроорганизмы являются факультативными хемолитоаутотрофами [Biology of the Prokaryotes, edited by J Lengeler, G. Drews, H. Schlegel, John Wiley & Sons, Jul 10, 2009, которая полностью включена в данный документ посредством ссылки]. В некоторых вариантах осуществления микроорганизмы или их белковый продукт включают один или более из следующих карбоксидотрофных микроорганизмов: *Acinetobacter sp.*; *Alcaligenes carboxydus* или другой *Alcaligenes sp.*; *Arthrobacter sp.*; *Azomonas sp.*; *Azotobacter sp.*; *Bacillus schlegelii* или другой *Bacillus sp.*; *Hydrogenophaga pseudoflava* или другой *Hydrogenophaga sp.*; *Pseudomonas carboxydohydrogena*, *Pseudomonas carboxydovorans*, *Pseudomonas compransoris*, *Pseudomonas gazotropha*, *Pseudomonas thermocarboxydovorans*, или другой *Pseudomonas sp.*; *Rhizobium japonicum* или другой *Rhizobium sp.*; и *Streptomyces G26*, *Streptomyces thermoautotrophicus* или другой *Streptomyces sp.* В некоторых вариантах осуществления микроорганизмы или их белковый продукт включают объединение микроорганизмов, которое включает карбоксидотрофные микроорганизмы, такие как один или более из указанных выше карбоксидотрофных микроорганизмов. В определенных вариантах осуществления используют карбоксидотрофный микроорганизм, способный к хемолитоаутотрофии. В определенных вариантах осуществления используют карбоксидотрофный микроорганизм, способный использовать H_2 в качестве донора электронов в процессах дыхания и/или биосинтеза.

[167] В некоторых вариантах осуществления микроорганизмы или их белковый продукт включают облигатные и/или факультативные хемоаутотрофные микроорганизмы, такие как один или более из следующих: *Acetoanaerobium sp.*; *Acetobacterium sp.*; *Acetogenium sp.*; *Achromobacter sp.*; *Acidianus sp.*; *Acinetobacter sp.*; *Actinomadura sp.*; *Aeromonas sp.*; *Alcaligenes sp.*; *Alcaligenes sp.*; *Aquaspirillum sp.*; *Arcobacter sp.*; *Aureobacterium sp.*; *Bacillus sp.*; *Beggiatoa sp.*; *Butyribacterium sp.*; *Carboxydotherrmus sp.*; *Clostridium sp.*; *Comamonas sp.*; *Cupriavidus sp.*; *Dehalobacter sp.*; *Dehalococcoide sp.*; *Dehalospirillum sp.*; *Desulfobacterium sp.*; *Desulfomonile sp.*; *Desulfotomaculum sp.*; *Desulfovibrio sp.*; *Desulfurosarcina sp.*; *Ectothiorhodospira sp.*; *Enterobacter sp.*; *Eubacterium sp.*; *Ferroplasma sp.*; *Halothibacillus sp.*; *Hydrogenobacter sp.*; *Hydrogenomonas sp.*; *Leptospirillum sp.*; *Metallosphaera sp.*; *Methanobacterium sp.*; *Methanobrevibacter sp.*; *Methanococcus sp.*; *Methanococcoides sp.*; *Methanogenium sp.*; *Methanolobus sp.*; *Methanomicrobium sp.*; *Methanoplanus sp.*; *Methanosarcina sp.*; *Methanospirillum sp.*; *Methanothermus sp.*; *Methanotherix sp.*; *Micrococcus sp.*; *Nitrobacter sp.*; *Nitrobacteraceae sp.*; *Nitrococcus sp.*; *Nitrosococcus sp.*; *Nitrospina sp.*; *Nitrospira sp.*; *Nitrosolobus sp.*; *Nitrosomonas sp.*; *Nitrosospira sp.*; *Nitrosovibrio sp.*; *Nitrospina*

sp.; *Oleomonas sp.*; *Paracoccus sp.*; *Peptostreptococcus sp.*; *Planctomyces sp.*; *Pseudomonas sp.*; *Ralstonia sp.*; *Rhodobacter sp.*; *Rhodococcus sp.*; *Rhodocyclus sp.*; *Rhodomicrobium sp.*; *Rhodopseudomonas sp.*; *Rhodospirillum sp.*; *Shewanella sp.*; *Siderococcus sp.*; *Streptomyces sp.*; *Sulfobacillus sp.*; *Sulfolobus sp.*; *Thermothrix sp.*, *Thiobacillus sp.*; *Thiomicrospira sp.*; *Thioploca sp.*; *Thiosphaera sp.*; *Thiothrix sp.*; *Thiovulum sp.*; окислители серы; окислители водорода; окислители железа; ацетогены; и метаногены; объединения микроорганизмов, включающие хемоаутотрофов; хемоаутотрофы, произрастающие по меньшей мере в одном из гидротермальных источников, геотермальных источниках, горячих источниках, холодных просачиваниях, подземных водоносных горизонтах, соленых озерах, соляных образованиях и почвах; и экстремофилы, выбранные из одного или нескольких термофилов, гипертермофилов, ацидофилов, галофилов и психрофилов. В некоторых вариантах осуществления микроорганизмы или их белковый продукт включают объединение микроорганизмов, которое включает хемоаутотрофные микроорганизмы, такие как один или более из указанных выше хемоаутотрофных микроорганизмов.

[168] В некоторых вариантах осуществления микроорганизмы или их белковый продукт включают экстремофилы, которые могут выдерживать экстремальные значения различных параметров окружающей среды, таких как температура, радиация, давление, гравитация, вакуум, высыхание, соленость, pH, напряжение кислорода и/или химические вещества. К таким микроорганизмам относятся гипертермофилы, такие как *Pyrolobus fumarii*; термофилы, такие как *Synechococcus lividis*; мезофилы и психрофилы, такие как *Psychrobacter*, и/или чрезвычайно термофильные метаболизаторы серы, такие как *Thermoproteus sp.*, *Pyrodictium sp.*, *Sulfolobus sp.*, и *Acidiamus sp.*; радиационно-устойчивые организмы, такие как *Deinococcus radiodurans*; устойчивые к давлению микроорганизмы, включая пьезофилы или барофилы; устойчивые к осушителям и ангидробиотические микроорганизмы, включая ксерофилы, такие как *Artemia salina*; микробы и грибки; солеустойчивые микроорганизмы, включая галофилы, такие как *Halobacteriaceae* и *Dunaliella salina*; микроорганизмы, устойчивые к pH, включая алкалофилы, такие как *Natronobacterium*, *Bacillus firmus* OF4, *Spirulina spp.*, и ацидофилы, такие как *Cyanidium caldarium* и *Ferroplasma sp.*; газоустойчивые микроорганизмы, например, устойчивые к чистому CO₂, включая *Cyanidium caldarium*; и толерантные к металлам микроорганизмы (металлотолерантные), такие как *Ferroplasma acidarmanus* и *Ralstonia sp.*

[169] В определенных вариантах осуществления микроорганизмы или их белковый продукт включают клеточную линию, выбранную из эукариотических растений, водорослей, цианобактерий, зелено-серных бактерий, зеленых несерных бактерий, пурпурных серных бактерий, пурпурных несерных бактерий, экстремофилов, дрожжей,

грибков, протеобактерий, их генно-инженерных организмов и синтетических организмов. В определенных вариантах осуществления используется спирулина.

[170] В определенных вариантах осуществления микроорганизмы или их белковый продукт включают зеленые несерные бактерии, которые включают, но не ограничиваются ими, следующие роды: *Chloroflexus*, *Chloronema*, *Oscillochloris*, *Heliothrix*, *Herpetosiphon*, *Roseiflexus* и *Thermomicrobium*.

[171] В определенных вариантах осуществления микроорганизмы или их белковый продукт включают зеленые серные бактерии, которые включают, но не ограничиваются ими, следующие роды: *Chlorobium*, *Clathrochloris* и *Prosthecochloris*.

[172] В определенных вариантах осуществления микроорганизмы или их белковый продукт включают пурпурные серные бактерии, которые включают, но не ограничиваются ими, следующие роды: *Allochromatium*, *Chromatium*, *Halochromatium*, *Isochromatium*, *Marichromatium*, *Rhodovulum*, *Thermochromatium*, *Thiocapsa*, *Thiorhodococcus* и *Thiocystis*.

[173] В определенных вариантах осуществления микроорганизмы или их белковый продукт включают пурпурные несерные бактерии, которые включают, но не ограничиваются ими, следующие роды: *Phaeospirillum*, *Rhodobaca*, *Rhodobacter*, *Rhodomicrobium*, *Rhodopila*, *Rhodopseudomonas*, *Rhodothalassium*, *Rhodospirillum*, *Rodovibrio* и *Roseospira*.

[174] В некоторых вариантах осуществления микроорганизмы или их белковый продукт включают метанотрофов и/или метилотрофов. В некоторых вариантах осуществления микроорганизм относится к роду *Methylococcus*. В некоторых вариантах осуществления микроорганизм представляет собой *Methylococcus capsulatus*. В некоторых вариантах осуществления микроорганизм является метилотрофом. В некоторых вариантах осуществления микроорганизм относится к роду *Methylobacterium*. В некоторых вариантах осуществления микроорганизмы включают один или более из следующих видов: *Methylobacterium zatmanii*; *Methylobacterium extorquens*; *Methylobacterium chloromethanicum*.

[175] В некоторых вариантах осуществления микроорганизмы или их белковый продукт - водородокисляющие хемоаутоотрофы, и/или карбоксидотрофы, и/или метилотрофы, и/или метанотрофы.

[176] В определенных вариантах осуществления микроорганизмы или их белковый продукт включают микроорганизмы, которые могут расти гетеротрофно, используя многоуглеродные органические молекулы в качестве источников углерода, такие как, но не ограничиваясь ими, сахара, например, но не ограничиваясь ими, глюкозу, и/или фруктозу, и/или сахарозу. В некоторых вариантах осуществления микроорганизм способен расти на

необработанном неочищенном глицерине, и/или глюкозе, и/или метаноле, и/или ацетате в качестве единственного донора(-ов) электронов и источника(-ов) углерода. В некоторых вариантах осуществления микроорганизм способен к миксотрофному росту, например миксотрофному росту на органическом источнике углерода и неорганическом источнике энергии (например, неорганическом доноре электронов).

[177] В определенных вариантах осуществления микроорганизмы или их белковый продукт включают одно или более из эукариотических растений, водорослей, цианобактерий, зелено-серных бактерий, зеленых несерных бактерий, пурпурных серных бактерий, пурпурных несерных бактерий, экстремофилов, архей, дрожжей, грибов, протеобактерий, их генно-инженерных организмов и синтетических организмов.

[178] В некоторых вариантах осуществления микроорганизмы включают или состоят из грамположительных бактерий. В других вариантах осуществления микроорганизмы включают или состоят из грамотрицательных бактерий.

[179] В определенных вариантах осуществления микроорганизмы или их белковый продукт включают встречающиеся в природе и/или негенетически модифицированные (не ГМО) микроорганизмы, и/или непатогенные, и/или выращенные в определенных условиях окружающей среды, обеспечиваемых биопроцессами, отсутствующими в окружающей среде.

[180] В определенных вариантах осуществления микроорганизмы или объединение микроорганизмов выделяют из образцов окружающей среды и обогащают желательными микроорганизмами с использованием методов, известных в области микробиологии, например, выращивание в присутствии целевых доноров электронов, включая, но не ограничиваясь этим, один или более из: H_2 , CO, сингаз и/или метан, и/или акцепторы электронов, включая, помимо прочего, один или более из O_2 , нитратов, трехвалентного железа и/или CO_2 , и/или условий окружающей среды (например, температура, pH, давление, растворенный кислород (DO), соленость, наличие различных примесей и загрязняющих веществ и др.).

[181] В определенных вариантах осуществления микроорганизмы или объединение микроорганизмов включают пробиотические микроорганизмы. В определенных вариантах осуществления микроорганизмы или объединение микроорганизмов включают «общепризнанные безопасными» (GRAS) микроорганизмы, например, бактериальные и/или грибковые GRAS-микроорганизмы. В определенных вариантах осуществления микроорганизмы или объединение микроорганизмов включают дрожжи, например, но не ограничиваясь ими, одно или более из следующего: *Candida humilis*; *Candida milleri*; *Debaryomyces hansenii*; *Kazachstania exigua* (*Saccharomyces exiguous*); *Saccharomyces*

cerevisiae; *Saccharomyces florentinus*; *Torulaspora delbrueckii*; *Trichosporon beigelli*; и/или включают грибы, например, но не ограничиваясь ими, одно или более из следующего: *Aspergillus oryzae*; *Aspergillus sojae*; *Fusarium venenatum* A3/5; *Neurospora intermedia* var. *oncomensis*; *Rhizopus oligosporus*; *Rhizopus oryzae*; *Aspergillus luchuensis*; и/или включают бактерии, например, но не ограничиваясь ими, одно или более из следующего: *Bacillus amyloliquefaciens*; *Bacillus subtilis*; *Bifidobacterium animalis* (*lactis*); *Bifidobacterium bifidum*; *Bifidobacterium breve*; *Bifidobacterium longum*; *Lactobacillus acidophilus*; *Lactobacillus brevis*; *Lactobacillus casei*; *Lactobacillus delbrueckii* subsp. *Bulgaricus*; *Lactobacillus fermentum*; *Lactobacillus helveticus*; *Lactobacillus kefiranofaciens*; *Lactobacillus lactis*; *Lactobacillus plantarum*; *Lactobacillus rhamnosus*; *Lactobacillus reuteri*; *Lactobacillus sakei*; *Lactobacillus sanfranciscensis*; *Lactococcus lactis* (*Streptococcus lactis*, *Streptococcus lactis* subsp. *Diacetylactis*); *Leuconostoc*; *Leuconostoc carnosum*; *Leuconostoc cremoris*; *Leuconostoc mesenteroides*; *Pediococcus*; *Propionibacterium freudenreichii*; *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis*; *Streptococcus faecalis*; *Streptococcus thermophilus*.

[182] Биомасса, содержащая белок, из которой получают белковый продукт, может быть получена объединением различных видов микроорганизмов. Объединение может необязательно включать многоклеточные организмы. В некоторых вариантах осуществления объединение включает один или более из: кислород-водородного микроорганизма; карбоксидотрофа; метанотрофа; метилотрофа; хемоаутотрофа; фотоаутотрофа и гетеротрофа.

[183] В некоторых вариантах осуществления белковый продукт также включает один или более витаминов, продуцируемых микроорганизмами, из которых был получен белковый продукт. В некоторых неограничивающих вариантах осуществления микроорганизмы включают микроорганизм *Cupriavidus*, например, *Cupriavidus necator* (например, *Cupriavidus necator* DSM 531 или *Cupriavidus necator* DSM 541). В некоторых неограничивающих вариантах осуществления витамин представляет собой витамин В, включая, помимо прочего, витамин В1, В2 и/или В12. В неограничивающем примере витамин В (например, В1, В2 и/или В12) может быть получен с помощью микроорганизма *Cupriavidus*, например, *Cupriavidus necator* (например, *Cupriavidus necator* DSM 531 или *Cupriavidus necator* DSM 541).

Микробные культуры

[184] Для культивирования микроорганизмов можно использовать любые подходящие способы. Микроорганизм можно выращивать в любых подходящих условиях, в среде, подходящей для роста и производства биомассы. В некоторых вариантах осуществления

микроорганизм можно выращивать в условиях аутотрофной культуры, в условиях гетеротрофной культуры или в комбинации условий аутотрофной и гетеротрофной культуры. Гетеротрофная культура может включать подходящий источник углерода и энергии, такой как один или более сахаров (например, глюкоза, фруктоза, сахароза и т.д.). Аутотрофная культура может включать химические вещества C1, такие как монооксид углерода, диоксид углерода, метан, метанол, формиат и/или муравьиная кислота, и/или смеси, содержащие химические вещества C1, включая, помимо прочего, различные композиции сингаза или различные составы генераторного газа, например, полученный из низкоценных источников углерода и энергии, таких как, помимо прочего, лигноцеллюлозные энергетические культуры, пожнивные остатки, багасса, опилки, лесохозяйственные отходы или продукты питания, путем газификации, частичного окисления, пиролиза или паровой конверсии из указанных низкоценных источников углерода, которые могут быть использованы кислородно-водородным микроорганизмом или микроорганизмом, окисляющим водород, или микроорганизмом, окисляющим монооксид углерода, в качестве источника углерода и источника энергии. Подходящие способы и устройства для культивирования микроорганизмов и получения биомассы для использования в способах по изобретению описаны, например, в заявках РСТ №№ US2010/001402, US2011/034218, US2013/032362, US2014/029916, US2017/023110, US2018/016779 и патент США № 9157058, каждый из которых полностью включен в данный документ посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления организм может быть выращен фотосинтезом в биореакторе, в системе гидропоники, в теплице или на возделываемом поле, или может быть собран из отходов или природных источников.

[185] Жидкие культуры, используемые для выращивания клеток микроорганизмов, описанных в данном документе, могут быть помещены в сосуды для культивирования, известные и используемые в данной области техники. В некоторых вариантах осуществления крупномасштабное производство в биореакторе можно использовать для получения больших количеств желаемой молекулы и/или биомассы.

[186] В определенных вариантах осуществления сосуды биореактора используются для содержания, выделения и/или защиты культуральной среды. К сосудам для культивирования относятся те, которые известны специалистам в области крупномасштабного культивирования микробов. Такие сосуды для культивирования включают, но не ограничиваются одним или более из следующего: аэролифтные реакторы; биологические скрубберные колонны; пузырьковые колонны; реакторы с мешалкой; реакторы с мешалкой непрерывного действия; противоточные реакторы с восходящим потоком и с расширенным слоем; дигесторы и, в частности, варочные системы, например

такие, которые известны в области биоремедиации; фильтры, включая, но не ограничиваясь ими, капельные фильтры, вращающиеся биологические контакторные фильтры, вращающиеся диски, почвенные фильтры; реакторы с псевдооживленным слоем; газлифтные ферментеры; иммобилизованные клеточные реакторы; петлевые реакторы; мембранные биопленочные реакторы; смесители с воздушным перемешиванием; реакторы с уплотненным слоем; реакторы идеального вытеснения; статические смесители; реакторы с орошаемым слоем; и/или биореакторы с вертикальным валом.

[187] Культивирование микробов, направленное на коммерческое производство биомассы и/или органических соединений, например, белкового продукта, как описано в данном документе, в частности, одноклеточного белка, клеточного лизата, белкового экстракта, экстракта, содержащего белок, белкового концентрата, белкового изолята, белкового гидролизата, свободных аминокислот, пептидов, олигопептидов или их комбинаций и/или других питательных веществ, таких как, но не ограничиваясь ими, витамины (например, витамины группы В, например, В1, В2 и/или В12), может быть получено в биореакторах в больших масштабах (например, объем биореактора 500 л, 1000 л, 5000 л, 10 000 л, 50 000 л, 100 000 л, 1 000 000 л и выше).

[188] В определенных вариантах осуществления хемоаутотрофные, и/или гетеротрофные, и/или карбоксидотрофные, и/или метанотрофные, и/или метилотрофные микроорганизмы выращивают в жидкой среде внутри биореактора с использованием описанных в данном документе способов.

[189] В некоторых вариантах осуществления биореактор, содержащий микроорганизмы, сконструирован из непрозрачных материалов, которые держат культуру в частичной или полной темноте. Биореакторы, изготовленные из непрозрачных материалов, таких как сталь и/или другие металлические сплавы, и/или армированный бетон, и/или стекловолокно, и/или различные высокопрочные пластиковые материалы, могут иметь большие рабочие объемы. В некоторых вариантах осуществления используются ферментеры из стали или других металлических сплавов объемом 50 000 литров и более. В некоторых вариантах осуществления используются биореакторы, способные выдерживать положительное давление в свободном пространстве над давлением окружающей среды. В некоторых вариантах осуществления используются яйцевидные или цилиндрические дигесторы или биореакторы с вертикальным валом объемом 3 000 000 литров и более. В некоторых вариантах осуществления биореактор, содержащий микроорганизм, не позволяет свету проникать в часть, большую часть или весь содержащийся в нем объем жидкости. В определенных неограничивающих вариантах осуществления микроорганизм, используемый на стадии фиксации CO_2 , не является фотосинтезирующим. В определенных

неограничивающих вариантах осуществления конструкция биореактора не ограничивает культуру тонкими слоями и не имеет прозрачных стенок, чтобы свет был доступен для всех частей, как это обычно необходимо при фотосинтезе. В некоторых вариантах осуществления микроорганизм культивируется без значительного или какого-либо воздействия света. В определенных таких вариантах осуществления, чистое потребление CO_2 по-прежнему происходит в отсутствие света из-за хемоаэотрофного метаболизма и условий. В определенных вариантах осуществления преобразование электричества в искусственный свет не требуется в биологической системе для улавливания и преобразования CO_2 .

[190] В определенных вариантах осуществления отсутствие зависимости от света облегчает непрерывную работу по улавливанию CO_2 , днем и ночью, круглый год, при любых погодных условиях, без необходимости в каком-либо искусственном освещении.

[191] В некоторых вариантах осуществления микроорганизмы выращивают и поддерживают в среде, содержащей газообразный источник углерода, такой как сингаз, генераторный газ или газовые смеси, содержащие H_2 и CO_2 , но не ограничиваясь ими, в отсутствие света; причем такой рост известен как хемоаутоτροφный рост.

[192] В некоторых вариантах осуществления сингаз, например, образующийся при газификации органического вещества, используется микроорганизмами для хемоаутоτροφного роста. Органическое вещество может быть, например, из сельскохозяйственного источника (например, кукурузная солома, багасса).

[193] В некоторых вариантах осуществления CO_2 пищевого качества и/или воздух, проходящий через устройство прямого улавливания воздуха, используется микроорганизмами для хемоаутоτροφного роста. Неограничивающие примеры прямого захвата воздуха можно найти в публикации США № 2017/0106330 и Keith, D., et al. (2018) *Joule* 2(8):1573-1594, которые полностью включены в данный документ посредством ссылки. В некоторых вариантах осуществления CO_2 поступает из промышленного источника и, при желании, может быть сконцентрирован с помощью процедуры газоразделения, что приводит к получению CO_2 высокой концентрации для пищевых продуктов.

[194] В определенных вариантах осуществления увеличение пропускной способности системы достигается за счет вертикального, а не только горизонтального масштабирования. Это контрастирует с фототрофными подходами, использующими водоросли, цианобактерии или высшие растения для улавливания CO_2 . Хотя для фотосинтетических систем были предложены различные схемы вертикального земледелия, с практической и экономической точек зрения фототрофные системы должны расширяться горизонтально,

например, в неглубоких прудах или фотобиореакторах в случае водорослей. Это приводит к большим географическим следам и множеству негативных воздействий на окружающую среду.

[195] Система водорослей или высших растений, выращенная с искусственным освещением, сталкивается с проблемами неэффективного использования энергии света и неэффективного преобразования электрической энергии в энергию света. В определенных вариантах осуществления сопоставимая культура водорослей или высоких растений, выращенная при искусственном освещении, потребует больше электроэнергии, чем описанная в данном документе система улавливания CO_2 и/или производства биомассы с точки зрения улавливания CO_2 и/или производства биомассы. В определенных вариантах осуществления сопоставимая культура водорослей или высоких растений, выращенная при искусственном освещении, потребует по меньшей мере в десять раз больше электроэнергии, чем описанная в данном документе система улавливания CO_2 и/или производства биомассы с точки зрения мощности на единицу улавливания CO_2 и/или производства биомассы. Для водорослей или высших растений, выращенных при искусственном освещении, потребность в отводе тепла почти прямо пропорциональна потребляемой электроэнергии. В определенных вариантах осуществления способов, описанных в данном документе, требования по отводу тепла ниже, чем для сопоставимой системы водорослей или высших растений, с точки зрения улавливания CO_2 и/или производства биомассы при выращивании на искусственном освещении. В определенных вариантах осуществления требования по отводу тепла по меньшей мере в десять раз ниже, чем для сопоставимой системы водорослей или высших растений, с точки зрения улавливания CO_2 и/или производства биомассы при выращивании на искусственном освещении.

[196] В иллюстративном, но не ограничивающем варианте осуществления, биореактор, содержащий питательную среду, инокулируют клетками-продуцентами. Как правило, последует лаг-фаза, прежде чем клетки начнут удваиваться. После лаг-фазы время удвоения клеток уменьшается, и культура переходит в логарифмическую фазу. За логарифмической фазой в конечном итоге следует увеличение времени удвоения, которое, хотя и не должно быть ограничено теорией, считается результатом либо ограничения массообмена, истощения питательных веществ, включая источники азота или минералов, либо повышения концентрации ингибирующих химических веществ, или ощущение кворума микробами. Рост замедляется, а затем прекращается, когда культура входит в стационарную фазу. В определенных вариантах осуществления стационарной фазе предшествует арифметическая фаза роста. Для сбора клеточной массы культуру в определенных

вариантах осуществления собирают в логарифмической фазе, и/или в арифметической фазе, и/или в стационарной фазе.

[197] Биореактор или ферментер используется для культивирования клеток на различных фазах их физиологического цикла. Биореактор используется для культивирования клеток, которые могут поддерживаться на определенных фазах кривой их роста. Использование биореакторов выгодно во многих отношениях для культивирования хемоаутоτροφного роста. В определенных вариантах осуществления богатую белком клеточную массу, которую используют для получения белков или белковых гидролизатов, выращивают до высокой плотности в жидкой суспензии. Как правило, в биореакторе облегчается контроль условий роста, включая контроль растворенного диоксида углерода, кислорода и других газов, таких как водород, а также других растворенных питательных веществ, следовых элементов, температуры и рН. В определенных вариантах осуществления богатую белком клеточную массу, которую используют для получения аминокислот, пептидов, белков, гидролизатов, экстрактов или цельноклеточных продуктов, выращивают до высокой плотности и/или выращивают с высокой продуктивностью в жидкой суспензии в биореакторе.

[198] Питательные среды, а также газы можно добавлять в биореактор либо в виде периодического добавления, либо периодически, либо в ответ на обнаруженное истощение или запрограммированную заданную точку, либо непрерывно в течение периода выращивания и/или поддержания культуры. Для некоторых вариантов осуществления биореактор при инокуляции заполняется исходной партией питательной среды и/или одним или более газами в начале роста, и после инокуляции не добавляются дополнительные питательные среды и/или один или более газов. Для некоторых вариантов осуществления после инокуляции периодически добавляют питательную среду и/или один или более газов. Для некоторых вариантов осуществления после инокуляции добавляют питательную среду и/или один или более газов в ответ на выявленное истощение питательных веществ и/или газа. Для некоторых вариантов осуществления после инокуляции непрерывно добавляют питательную среду и/или один или более газов.

[199] Для некоторых вариантов осуществления добавленная питательная среда не содержит никаких органических соединений.

[200] В определенных вариантах осуществления небольшое количество клеток микроорганизмов (т. е. инокулят) добавляют к заданному объему питательной среды; затем культура инкубируется; а клеточная масса проходит лаг-фазу, экспоненциальную, замедленную и стационарную фазы роста.

[201] В системах культивирования партиями условия (например, концентрация питательных веществ, рН и т. д.), в которых культивируется микроорганизм, обычно непрерывно изменяются в течение всего периода роста. В определенных неограничивающих вариантах осуществления, чтобы избежать колебаний условий, присущих культивированию партиями, и для повышения общей продуктивности системы культивирования, микроорганизмы, используемые для производства белка, и/или витаминов, и/или других питательных веществ, выращивают в системе непрерывного культивирования, называемой хемостатом. В таких системах. Культуру можно поддерживать в постоянной экспоненциальной фазе роста, подпитывая ее свежей средой с постоянной скоростью [F], в то же время поддерживая постоянный объем [V] культуры. В определенных вариантах осуществления система непрерывного культивирования гарантирует, что клетки культивируются в условиях окружающей среды, которые остаются примерно постоянными. В определенных вариантах осуществления клетки поддерживаются в постоянной экспоненциальной фазе с помощью системы хемостата. В определенных случаях культуру поддерживают в устойчивом состоянии с примерно фиксированным количеством стоячей биомассы, поддерживаемым в биореакторе с течением времени. В таком случае скорость разбавления (D) культуры равна скорости роста микроорганизма и определяется как: $D = F/V$. Скорость роста микроорганизма в непрерывной культуре можно изменить, изменив скорость разбавления. В определенных вариантах осуществления скорость роста микроорганизма изменяется путем изменения скорости разбавления. В определенных неограничивающих вариантах осуществления клетки выращивают в хемостате при степени разбавления около $0,2 \text{ h}^{-1}$. В определенных вариантах осуществления биореактор непрерывного действия поддерживается в качестве турбидостата, где в биореакторе с течением времени поддерживается фиксированное количество стоячей биомассы, и где вся избыточная биомасса, которая производится сверх того, что необходимо для поддержания фиксированного количества стоячей биомассы в биореакторе, непрерывно собирается из биореактора.

[202] В определенных вариантах осуществления инокуляцию культуры в биореактор осуществляют способами, включая, помимо прочего, перенос культуры из существующей культуры, находящейся в другом биореакторе, или инкубацию из посевного материала, выращенного в инкубаторе. В определенных вариантах осуществления посевной материал штамма может транспортироваться и храниться в формах, включая, помимо прочего, порошкообразную, жидкую, замороженную или сублимированную форму, а также любую другую подходящую форму, которая может быть легко распознана специалистом в данной

области техники. В определенных неограничивающих вариантах осуществления резервные бактериальные культуры хранятся в метаболически неактивном лиофилизированном состоянии до тех пор, пока не потребуются их повторное использование. В определенных вариантах осуществления при создании культуры в очень большом реакторе культуры выращивают и помещают во все более крупные сосуды среднего размера до инокуляции в полноразмерный сосуд.

[203] В определенных вариантах осуществления биореакторы имеют механизмы, позволяющие смешивать питательные среды, которые включают, помимо прочего, одно или более из следующего: вращающиеся мешалки, лопасти, крыльчатки или турбины; вращающиеся, раскачивающие или вращающиеся сосуды; газлифты, барботаж; рециркуляция бульона снизу вверх через рециркуляционный трубопровод, прохождение бульона через петлю и/или статические смесители. Культуральные среды можно перемешивать непрерывно или периодически.

[204] В определенных вариантах осуществления питательная среда, содержащая микроорганизмы, может удаляться из биореактора частично или полностью, периодически или непрерывно, и в определенных вариантах осуществления заменяется свежей бесклеточной средой для поддержания клеточной культуры в фазе экспоненциального роста и/или в другой целевой фазе роста (например, арифметический рост), и/или для пополнения истощенных питательных веществ в среде для выращивания, и/или удаления ингибиторных отходов.

[205] Отверстия, которые являются стандартными для биореакторов, могут использоваться для доставки или отвода газов, жидкостей, твердых веществ и/или взвесей в и/или из сосуда биореактора, содержащего микробы. Многие биореакторы имеют несколько отверстий для разных целей (например, отверстия для добавления среды, добавления газа, зонды для pH и DO и отбора проб), и данное отверстие может использоваться для различных целей в ходе цикла ферментации. Например, отверстие может использоваться для добавления питательной среды в биореактор в один момент времени, а в другой момент может использоваться для отбора проб. Предпочтительно многократное использование отверстия для отбора проб может быть выполнено без внесения загрязнения или инвазивных видов в среду выращивания. К отверстию для отбора проб может быть подключен клапан или другой исполнительный механизм, позволяющий управлять потоком пробы или осуществлять непрерывный отбор проб. В определенных вариантах осуществления биореакторы оснащены по меньшей мере одним отверстием, подходящим для инокуляции культуры, которое может дополнительно использоваться для других целей, включая добавление среды или газа. Отверстия биореактора позволяют

контролировать состав газа и скорость потока в культуральную среду. Например, отверстия можно использовать в качестве впускных отверстий для газа в биореактор, через которые газы прокачиваются.

[206] В некоторых вариантах осуществления газы, которые можно закачивать в биореактор, включают, помимо прочего, один или более из следующего: сингаз, генераторный газ, газообразный водород, CO, CO₂, O₂, воздух, смеси воздух/CO₂, природный газ, метан, аммиак, азот, благородные газы, такие как аргон, а также другие газы. В некоторых вариантах осуществления CO₂, закачиваемый в систему, может поступать из источников, включая, но не ограничиваясь ими: CO₂ в результате газификации органического вещества; CO₂ в результате обжига известняка, CaCO₃, для производства негашеной извести, CaO; CO₂ от паровой конверсии метана, такой как побочный продукт CO₂ от производства аммиака, метанола или водорода; CO₂ от возгорания, сжигания или сжигания в факелах; побочный продукт CO₂ анаэробного или аэробного брожения сахара; побочный продукт CO₂ метанотрофного биопроцесса; геологически или геотермально произведенный или выброшенный CO₂; CO₂, удаленный из кислого газа или природного газа. В определенных неограничивающих вариантах осуществления CO₂ был удален из промышленных дымовых газов или перехвачен из геологического источника, который в противном случае естественным образом выбрасывался бы в атмосферу. В определенных вариантах осуществления источником углерода является CO₂ и/или бикарбонат и/или карбонат, растворенные в морской воде или других поверхностных или подземных водоемах. В определенных таких вариантах осуществления неорганический углерод может быть введен в биореактор растворенным в жидкой воде и/или в виде твердого вещества. В определенных вариантах осуществления источником углерода является CO₂, захваченный из атмосферы. В определенных неограничивающих вариантах осуществления CO₂ был уловлен из закрытой кабины как часть системы жизнеобеспечения с замкнутым контуром с использованием такого оборудования, как, помимо прочего, узел удаления CO₂ (CDRA), который используется, например, на Международной космической станции (ISS).

[207] В определенных неограничивающих вариантах осуществления геотермальные и/или гидротермальные источники, выбрасывающие высокие концентрации источников энергии (например, газы H₂, H₂S, CO), и/или источники углерода (например, CO₂, HCO₃⁻, CO₃²⁻) и/или другие растворенные минералы могут быть использованы в качестве источников питательных веществ для микроорганизмов.

[208] В определенных вариантах осуществления один или более газов в дополнение к диоксиду углерода или вместо диоксида углерода в качестве альтернативного источника углерода либо растворяются в растворе и подаются в культуральный бульон, либо/и

растворяются непосредственно в культуральном бульоне, включая, помимо прочего, газообразные доноры электронов и/или источники углерода (например, водород, и/или CO, и/или газообразный метан). В определенных вариантах осуществления входящие газы могут включать другие доноры электронов и/или акцепторы электронов, и/или источники углерода, и/или минеральные питательные вещества, такие как, помимо прочего, другие компоненты газа и примеси сингаза (например, углеводороды); аммиак; сульфид водорода; и/или другие кислые газы; и/или O₂; и/или минерал, содержащий твердые частицы и золу.

[209] В определенных вариантах осуществления в культуральном бульоне растворяют один или более газов, включая, но не ограничиваясь ими, газообразные доноры электронов, такие как, но не ограничиваясь ими, один или более из следующих: водород, монооксид углерода, метан, сероводород или другие кислые газы; газообразные источники углерода, такие как, но не ограничиваясь ими, один или более из следующего: CO₂, CO, CH₄; и акцепторы электронов, такие как, но не ограничиваясь ими, кислород, либо в воздухе (например, 20,9% кислорода), либо в виде чистого O₂, либо в виде газа, обогащенного O₂. В некоторых вариантах осуществления растворение этих и других газов в растворе достигается с помощью системы компрессоров, расходомеров и проточных клапанов, известных специалистам в области технологии ферментации, которые подают в одну или несколько из следующих широко используемых систем для диспергирования газа в растворе: барботажное оборудование; диффузоры, включая, помимо прочего, куполообразную, трубчатую, дисковую или кольцевую геометрию; аэраторы крупных или мелких пузырьков; оборудование Вентури. В определенных вариантах осуществления поверхностная аэрация и/или перенос массы газа также могут быть выполнены с использованием лопастных аэраторов и т.п. В определенных вариантах осуществления растворение газа усиливается за счет механического перемешивания с помощью мешалки или турбины, а также гидравлических сдвигающих устройств для уменьшения размера пузырьков. После прохождения через реакторную систему, содержащую микроорганизмы, которые поглощают газы, в определенных вариантах осуществления остаточные газы могут быть либо рециркулированы обратно в биореактор, либо сожжены для получения технологического тепла, либо сожжены в факеле, либо введены под землю, либо выпущены в атмосферу. В определенных вариантах осуществления в данном документе, используя H₂ в качестве донора электронов, H₂ можно подавать в сосуд для культивирования либо барботируя его через культуральную среду, либо путем его диффузии через известную в данной области техники водопроницаемую и водонепроницаемую мембрану, которая соприкасается с жидкой культуральной средой.

[210] В определенных вариантах осуществления микроорганизмы растут и размножаются на H_2 и CO_2 и других растворенных питательных веществах в микроаэробных условиях. В определенных вариантах осуществления химическое вещество C1, такое как, помимо прочего, монооксид углерода, метан, метанол, формиат или муравьиная кислота, и/или смеси, содержащие химические вещества C1, включая, помимо прочего, различные составы сингаза, полученные из различных газифицированных, пиролизных или паровых риформингов связанного углерода сырья биохимически превращаются в органические химические вещества с более длинной цепью (т.е. молекулы C2 или более длинной цепи и, в некоторых вариантах осуществления, молекулы C5 или более длинной углеродной цепи) в одном или нескольких из следующих условий: аэробные, микроаэробные, бескислородные, анаэробные и/или факультативные условия.

[211] Контролируемое количество кислорода также может поддерживаться в культуральном бульоне некоторых вариантов осуществления, и в определенных вариантах осуществления кислород будет активно растворяться в растворе, подаваемом в культуральный бульон, и/или непосредственно растворяться в культуральном бульоне. В определенных аэробных или микроаэробных вариантах осуществления, которые требуют нагнетания воздуха или кислорода в культуральный бульон для поддержания заданных уровней растворенного кислорода, в бульон можно вводить кислородные пузырьки оптимального диаметра для смешивания и переноса кислорода. В некоторых вариантах осуществления используются условия, подходящие для роста кислородно-водородного микроорганизма, такие как использование газообразных субстратов H_2 и O_2 (доноры и акцепторы электронов) и, необязательно, источника газообразного углерода C1, такого как CO_2 и/или CO.

[212] В некоторых вариантах осуществления микроорганизмы преобразуют топливный газ, включая сингаз, генераторный газ, CO, CO_2 , H_2 , природный газ, метан и их смеси, но не ограничиваясь ими. В некоторых вариантах осуществления теплосодержание топливного газа составляет по меньшей мере 100 BTU на стандартный кубический фут (scf). В некоторых вариантах осуществления биореактор, который используется для содержания и выращивания микроорганизмов, оснащен мелкопузырьковыми диффузорами и/или крыльчатками с высоким усилием сдвига для подачи газа.

[213] Ввод и/или увеличение скорости потока газа в биореакторе может улучшить перемешивание культуры и создать турбулентность, если впускное отверстие для газа расположено ниже поверхности жидкой среды, так что газ образует пузырьки или барботирует через среду. В определенных вариантах осуществления перемешивание усиливается за счет турбулентности, создаваемой пузырьками газа, и/или

барботированием, и/или закупориванием газа через жидкую среду. В некоторых вариантах осуществления биореактор содержит газоотводные отверстия для выпуска газа и сброса давления. В некоторых вариантах осуществления входы и выходы газа желательно оборудовать обратными клапанами для предотвращения обратного потока газа.

[214] В определенных вариантах осуществления, если в биореакторе происходят хемосинтетические реакции, один или более типов доноров электронов и один или более типов акцепторов электронов перекачиваются или иным образом добавляются либо в виде болюса, либо периодически, либо непрерывно в питательную среду, содержащую хемоаутоотрофные организмы, в реакционном сосуде. Реакция хемосинтеза, обусловленная переносом электронов от донора электронов к акцептору электронов при клеточном дыхании, фиксирует неорганический диоксид углерода и/или другие растворенные карбонаты и/или другие оксиды углерода в органические соединения и биомассу.

[215] В определенных вариантах осуществления используется питательная среда для роста и получения культуры, содержащая водный раствор, содержащий подходящие минералы, соли, витамины, кофакторы, буферы и другие компоненты, необходимые для микробного роста, известные специалистам в данной области техники [Bailey and Ollis, *Biochemical Engineering Fundamentals*, 2nd ed; pp 383-384 and 620-622; McGraw-Hill: New York (1986)].

[216] В определенных вариантах осуществления химические вещества, используемые для поддержания и роста микробных культур, известные в данной области техники, включаются в питательную среду. В определенных вариантах осуществления эти химические вещества могут включать, но не ограничиваться ими, одно или более из следующего: источники азота, такие как аммиак, аммоний (*например*, хлорид аммония (NH_4Cl), сульфат аммония ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$)), нитрат (*например*, нитрат калия (KNO_3)), мочевины или органический источник азота; фосфат (*например*, динатрия фосфат (Na_2HPO_4), калия фосфат (KH_2PO_4), фосфорная кислота (H_3PO_4), дитиофосфат калия ($\text{K}_3\text{PS}_2\text{O}_2$), ортофосфат калия (K_3PO_4), дикалия фосфат (K_2HPO_4)); сульфат; дрожжевой экстракт; хелатное железо; калий (*например*, фосфат калия (KH_2PO_4), нитрат калия (KNO_3), йодид калия (KI), бромид калия (KBr)); и другие неорганические соли, минералы и следовые элементы (*например*, хлорид натрия (NaCl), сульфат магния ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) или хлорид магния (MgCl_2), хлорид кальция (CaCl_2) или карбонат кальция (CaCO_3), сульфат магния ($\text{MnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) или хлорид марганца (MnCl_2), хлорид железа (FeCl_3), сульфат железа ($\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$) или хлорид железа ($\text{FeCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$), бикарбонат натрия (NaHCO_3) или карбонат натрия (Na_2CO_3), сульфат цинка (ZnSO_4) или хлорид цинка (ZnCl_2), молибдат аммония (NH_4MoO_4) или молибдат натрия ($\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), сульфат меди (CuSO_4) или хлорид меди ($\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$),

хлорид кобальта ($\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), хлорид алюминия ($\text{AlCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), хлорид лития (LiCl), boric acid (H_3BO_3), хлорид никеля ($\text{NiCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), хлорид олова ($\text{SnCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$), хлорид бария ($\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), селенат меди ($\text{CuSeO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) или селенит натрия (Na_2SeO_3), метаванадат натрия (NaVO_3), соли хрома). В определенных вариантах осуществления можно использовать среду с минеральными солями (MSM), разработанную Schlegel et al. ["Thermophilic Bacteria", Jakob Kristjansson, Chapter 5, Section III, CRC Press, (1992)].

[217] Описанные в данном документе микроорганизмы можно культивировать в некоторых вариантах осуществления в среде любого типа (обогащенной или минимальной), включая ферментационную среду и любую композицию. Как будет понятно специалисту в данной области техники, рутинная оптимизация позволит использовать различные типы сред. Выбранная среда может быть дополнена различными дополнительными компонентами. Некоторые неограничивающие примеры дополнительных компонентов включают глюкозу, фруктозу, сахарозу, крахмалы, полисахариды, белковые гидролизаты, антибиотики, IPTG для индукции генов и добавку для отслеживания минералов ATCC. Точно так же другие аспекты среды и условий роста микроорганизмов, описанных в данном документе, могут быть оптимизированы с помощью рутинных экспериментов. Например, pH и температура являются неограничивающими примерами факторов, которые можно оптимизировать. В некоторых вариантах осуществления такие факторы, как выбор среды, добавки к среде и температура, могут влиять на уровень образования желаемой молекулы. В некоторых вариантах осуществления концентрация и количество дополнительного компонента могут быть оптимизированы. В некоторых вариантах осуществления то, как часто среда дополняется одним или более дополнительными компонентами, и количество времени, в течение которого среда культивируется до сбора желаемой молекулы, оптимизируется.

[218] В определенных вариантах осуществления концентрации питательных химических веществ (например, доноров электронов, акцепторов электронов, источников углерода и/или различных минеральных питательных веществ) поддерживаются внутри биореактора близкими или на их соответствующих оптимальных уровнях для оптимального поглощения и/или фиксации и/или преобразования углерода и/или производство биомассы и/или органических соединений и, в частности, белка, которое варьируется в зависимости от используемого микроорганизма, но может быть обычным образом определено и/или оптимизировано специалистом в области культивирования микроорганизмов.

[219] В определенных вариантах осуществления в биореакторе отслеживают и/или контролируют один или более из следующих параметров: уровни отходов; pH; температура; соленость; растворенный кислород; растворенный углекислый газ; расход

жидкости; скорость перемешивания; давление газа. В определенных вариантах осуществления рабочие параметры, влияющие на хемоаутотрофный рост и/или другие типы роста (например, гетеротрофный рост), отслеживаются с помощью датчиков (например, датчика растворенного кислорода или окислительно-восстановительного датчика для измерения концентраций доноров/акцепторов электронов) и/или контролируются вручную или автоматически на основе обратной связи от датчиков с использованием оборудования, включая, помимо прочего, приводные клапаны, насосы и мешалки. В определенных вариантах осуществления температура поступающего бульона, а также поступающих газов регулируется такими системами, как, но не ограничиваясь ими, охладители, нагреватели и/или теплообменники.

[220] В определенных вариантах осуществления микробная культура и биореакция поддерживаются за счет непрерывного притока и удаления питательной среды и/или биомассы в стационарном состоянии, при котором популяция клеток и параметры окружающей среды (например, плотность клеток, pH, DO, химические концентрации) поддерживаются на постоянном уровне в течение времени. В определенных вариантах осуществления постоянный уровень является оптимальным уровнем для переработки сырья и/или получения целевых органических соединений. В определенных вариантах осуществления целевые органические соединения включают белки и/или аминокислоты. В определенных вариантах осуществления плотность клеток можно контролировать путем прямого отбора проб, корреляции оптической плотности с плотностью клеток и/или с помощью анализатора размера частиц. В определенных вариантах осуществления гидравлическое время удерживания и время удерживания биомассы могут быть разделены, чтобы обеспечить независимый контроль как химического состава бульона, так и плотности клеток. В определенных вариантах осуществления степень разбавления можно поддерживать достаточно высокой, чтобы время гидравлического удерживания было относительно низким по сравнению со временем удерживания биомассы, в результате чего бульон с высокой степенью пополнения для роста клеток и/или преобразования исходного сырья и/или производства органических соединений. В определенных вариантах осуществления степень разбавления устанавливается в соответствии с оптимальным технико-экономическим компромиссом между культуральным бульоном и пополнением питательных веществ и/или удалением отходов, а также повышенными технологическими затратами, связанными с перекачиванием, увеличением расхода и другими требованиями, которые возрастают с ростом степени разбавления.

[221] В определенных вариантах осуществления pH микробной культуры регулируется. В определенных вариантах осуществления pH регулируется в пределах оптимального

диапазона для поддержания микробов, и/или роста, и/или преобразования исходного сырья, и/или образования органических соединений, и/или выживания. Для решения проблемы снижения рН в определенных вариантах осуществления стадию нейтрализации можно проводить непосредственно в среде биореактора или перед рециркуляцией среды обратно в сосуд для культивирования через контур рециркуляции. Нейтрализацию кислоты в бульоне в определенных вариантах осуществления можно осуществить путем добавления оснований, включая, помимо прочего, одно или более из следующих веществ: известняк, известь, гидроксид натрия, аммиак, гидроксид аммония, едкий калий, оксид магния, оксид железа, щелочная зола.

[222] В определенных вариантах осуществления водная суспензия хемоаутотрофных микроорганизмов превращает один или более доноров электронов и CO_2 в протоплазму. В определенных вариантах осуществления указанная протоплазма содержит белки, пептиды и/или аминокислоты. В определенных вариантах осуществления водная суспензия водородокисляющих микроорганизмов может быть использована для превращения водорода и диоксида углерода в микробную протоплазму. В определенных вариантах осуществления водная суспензия микроорганизмов, окисляющих монооксид углерода, может быть использована для превращения монооксида углерода и водорода и/или воды в протоплазму. В определенных вариантах осуществления водная суспензия метаноокисляющих микроорганизмов может быть использована для превращения метана в протоплазму. В определенных вариантах осуществления микроорганизм в суспензии представляет собой бактерию или архебактерию. В определенных неограничивающих вариантах осуществления водная суспензия или биопленка H_2 -окисляющих хемоаутотрофных микроорганизмов превращает H_2 и CO_2 вместе с некоторыми другими растворенными минеральными питательными веществами в биохимические вещества и протоплазму. В определенных вариантах осуществления указанные биохимические вещества и/или протоплазма содержат белки, пептиды и/или аминокислоты. В определенных вариантах осуществления другие растворенные минеральные питательные вещества включают, но не ограничиваются ими, источник азота, источник фосфора и источник калия. В определенных вариантах осуществления полученная протоплазма имеет пищевую ценность для человека и/или других животных и/или других гетеротрофов. В определенных вариантах осуществления определенные биохимические вещества могут быть извлечены из протоплазмы и/или внеклеточного бульона, которые имеют питательную ценность и/или ценность в различных применениях органической химии или топлива. В определенных вариантах осуществления внутриклеточная энергия, необходимая для производства протоплазмы, получается в результате окисления донора

электронов акцептором электронов. В определенных неограничивающих вариантах осуществления донор электронов включает, помимо прочего, одно или более из следующего: H_2 ; CO ; CH_4 . В определенных неограничивающих вариантах осуществления акцептор электронов включает, но не ограничивается ими, O_2 и/или CO_2 . В определенных неограничивающих вариантах осуществления продукт реакции выработки энергии или дыхания включает воду, но не ограничивается ею. В определенных вариантах осуществления внутриклеточная энергия, полученная в результате дыхания, используется для запуска этого синтеза биохимических веществ и протоплазмы из CO_2 , хранится и переносится в биохимических молекулах, включая, помимо прочего, АТФ. Для кислородокисляющих микробов, используемых в определенных вариантах осуществления настоящего изобретения, акцептором электронов является O_2 , а продуктом дыхания является вода.

[223] В некоторых вариантах осуществления продукция белка и/или распределение продуцируемых аминокислотных молекул оптимизируется за счет одного или нескольких из следующего: контроля условий биореактора, контроля уровней питательных веществ и/или генетических модификаций клеток. В определенных вариантах осуществления пути к аминокислотам, или белкам, или другим питательным веществам, или цельноклеточным продуктам контролируются и оптимизируются для производства химических продуктов путем поддержания определенных условий роста (например, уровней доноров электронов, азота, кислорода, фосфора, серы, следовых микроэлементов, таких как неорганические ионы и, если присутствуют, какие-либо регуляторные молекулы, которые обычно не могут считаться питательными веществами или источником энергии). В определенных вариантах осуществления растворенный кислород (DO) можно оптимизировать, поддерживая бульон в аэробных, микроаэробных, бескислородных, анаэробных или факультативных условиях, в зависимости от требований микроорганизмов. Факультативной считается среда, имеющая аэробные верхние слои и анаэробные нижние слои, обусловленные расслоением водной толщи. Биосинтез аминокислот, или белков, или других питательных веществ, или цельноклеточных продуктов микробами, описанными в данном документе, может происходить во время логарифмической фазы, арифметической фазы или впоследствии во время стационарной фазы, когда удвоение клеток остановлено, при условии достаточного снабжения углерода и энергии и других источников питательных веществ.

[224] В некоторых вариантах осуществления среда для выращивания микроорганизма, описанная в данном документе, включает источник белка и/или питательных веществ из другого микроорганизма (например, клеточный лизат, белковый гидролизат, пептиды, олигопептиды и/или аминокислоты, и/или органические молекулы, и/или другие

питательные вещества из различных микроорганизмов). В некоторых вариантах осуществления микроорганизм в питательной среде представляет собой микроорганизм GRAS. В одном варианте осуществления питательная среда для молочнокислых бактерий, например, но не ограничиваясь ими, бактерии *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Streptococcus* или *Pediococcus* (например, молочнокислая бактерия GRAS, такая как бактерия GRAS *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Streptococcus* или *Pediococcus*), включает клеточный лизат, белковый гидролизат, пептиды, олигопептиды и/или аминокислоты, и/или органические молекулы, и/или другие питательные вещества из другого микроорганизма, например, но не ограничиваясь ими, микроорганизм *Cupriavidus*, например, но не ограничиваясь ими *Cupriavidus necator*, например, *Cupriavidus necator* DSM 531 или DSM 541. В другом варианте осуществления среда для выращивания грибкового микроорганизма, такого как грибковый микроорганизм *Fusarium* или *Rhizopus* или *Aspergillus* (например, грибковый микроорганизм GRAS, такой как грибковый микроорганизм GRAS *Fusarium* или *Rhizopus* или *Aspergillus*), например, но не ограничиваясь ими, *Fusarium venenatum*, *Rhizopus oligosporus*, *Rhizopus oryzae*, *Aspergillus oryzae* или *Aspergillus sojae*, включает цельноклеточную биомассу, клеточный лизат, белковый гидролизат, пептиды, олигопептиды и/или аминокислоты, и/или органические молекулы, и/или другие питательные вещества из другого микроорганизма, например, но не ограничиваясь ими, микроорганизм *Cupriavidus*, например, но не ограничиваясь ими, *Cupriavidus necator*, например, *Cupriavidus necator* DSM 531 или DSM 541.

[225] В некоторых вариантах осуществления грибковый микроорганизм, который способен лизировать бактериальные клетки и/или гидролизовать бактериальный белок, культивируют в присутствии таких бактериальных клеток или питательных веществ, полученных из таких бактериальных клеток. Например, бактериальная биомасса может быть выделена и необязательно обезвожена или необязательно дезактивирована, а затем грибковые микроорганизмы инокулированы на бактериальную биомассу, или грибковые микроорганизмы могут быть культивированы в питательной среде, как описано в данном документе, в присутствии бактериальной биомассы и/или питательных веществ бактериального происхождения. В определенных неограничивающих вариантах осуществления грибковые микроорганизмы включают микроорганизмы *Fusarium*, или *Rhizopus*, или *Aspergillus*, например, но не ограничиваясь ими, *Fusarium venenatum*, *Rhizopus oligosporus*, *Rhizopus oryzae*, *Aspergillus oryzae* или *Aspergillus sojae*. В определенных неограничивающих вариантах осуществления виды съедобных грибов *Agaricus bisporus* культивируют на среде, содержащей богатые белком клетки и/или питательные вещества, полученные согласно настоящему изобретению. В определенных вариантах

осуществления *Agaricus bisporus* лизирует клетки, полученные согласно настоящему изобретению. В определенных таких вариантах осуществления *Agaricus bisporus* использует белки, аминокислоты и/или другие питательные вещества, высвобождаемые в результате указанного лизиса клеток, для питания и роста.

[226] Конкретные примеры биореакторов, условия культивирования, гетеротрофный и хемотрофный рост, поддержание и аминокислоты, или белки, или другие питательные вещества, или способы производства цельноклеточных продуктов, описанные в данном документе, могут быть объединены любым подходящим образом для повышения эффективности микробного роста и аминокислоты, или белка, или другого питательного вещества, или продукцию цельных клеток.

Доноры и акцепторы электронов

[227] В определенных неограничивающих вариантах осуществления описанные в данном документе микроорганизмы выращивают хемоаутотрофно. Например, для роста микроорганизмов может использоваться биосинтетическое восстановление CO_2 с использованием акцептора электронов O_2 и/или донора электронов H_2 . В определенных вариантах осуществления O_2 и H_2 образуются при электролизе воды. В определенных неограничивающих вариантах осуществления часть O_2 , образующегося при электролизе воды, и весь H_2 подают в водную суспензию микроорганизмов, как описано в данном документе. В определенных неограничивающих вариантах осуществления молярное отношение H_2 , подаваемого в водную суспензию микроорганизмов, к молям O_2 больше 2:1. В определенных неограничивающих вариантах осуществления, где акцептор электронов O_2 и донор электронов H_2 генерируются электролизом воды, после удовлетворения всех метаболических потребностей микроорганизмов в H_2 и O_2 , описанных в данном документе, остается избыток O_2 . В определенных таких вариантах осуществления избыток O_2 может поставляться людям и/или другим аэробным формам жизни и/или в гидропонные системы для аэрации корней и/или использоваться в процессах газификации, частичного окисления или сжигания и/или храниться и продаваться как побочный химический продукт.

[228] В определенных вариантах осуществления, которые используют молекулярный водород в качестве донора электронов, может быть химический побочный продукт, образующийся при производстве молекулярного водорода с использованием возобновляемых источников энергии и/или без выбросов CO_2 . В определенных вариантах осуществления кислородно-водородная реакция, используемая в дыхании, ферментативно связана с окислительным фосфорилированием. В определенных вариантах осуществления образующиеся таким образом АТФ и/или другие внутриклеточные переносчики энергии

используются в анаболическом синтезе аминокислот и/или белков. В определенных вариантах осуществления кислород, получаемый при расщеплении воды в избытке, необходимом для дыхания, чтобы поддерживать оптимальные условия для фиксации углерода и производства органических соединений водородокисляющими микроорганизмами, может быть переработан в форму, пригодную для продажи, с помощью технологических стадий, известных в данной области техники, и наука о коммерческом производстве газообразного кислорода.

[229] В определенных вариантах осуществления применяются водородокисляющие, и/или СО-окисляющие, и/или СН₄-окисляющие микроорганизмы, которые используют больше электроотрицательных акцепторов электронов, чем СО₂, в энергосберегающих реакциях для производства АТФ (например, дыхания), таких как, но без исключения, О₂. Например, гидрогенотрофные кислород-водородные или водородокисляющие микробы, которые связывают кислород-водородную реакцию $2\text{H}_2 + \text{O}_2 \rightarrow 2\text{H}_2\text{O}$ с производством АТФ, могут производить больше АТФ на Н₂ и/или другой донор электронов, потребляемый для дыхания, чем ацетогены или метаногены, использующие СО₂ как акцептор электронов при дыхании. Например, водородокисляющие микроорганизмы могут продуцировать не менее двух АТФ на каждый Н₂, потребляемый при дыхании [L. Bongers (1970) "Energy generation and utilization in hydrogen bacteria" *Journal of bacteriology* 104(1):145-151 (<http://jb.asm.org/content/104/1/145.abstract>), включенный в данный документ полностью по ссылке], что в восемь раз больше АТФ, вырабатываемого на Н₂, потребляемого при дыхании, чем то, что может быть произведено микроорганизмами, подвергающимися метаногенезу или ацетогенезу, используя Н₂ в качестве донора электронов и СО₂ в качестве акцептора электронов при дыхании. По этой причине использование микроорганизмов, которые могут использовать более электроотрицательные акцепторы электронов в дыхании и в производстве АТФ, таких как, но не ограничиваясь ими, водородокисляющие микробы, для анаболического биосинтеза, такого как, помимо прочего, биосинтез аминокислот, белков или жирных кислот из синтгаза или Н₂, может быть более эффективным, чем использование ацетогенов или метаногенов, таких как те, которые в настоящее время используются в технологиях биологической газохимии (GTC) для производства короткоцепочечных кислот или спиртов (например, уксусной кислоты или этанола). В определенных вариантах осуществления кислородно-водородная реакция, используемая в дыхании, ферментативно связана с окислительным фосфорилированием. В определенных вариантах осуществления аэробное дыхание используется описанными в данном документе клетками микроорганизмов для производства АТФ. В определенных вариантах осуществления образующиеся таким образом АТФ и/или другие внутриклеточные

переносчики энергии используются в анаболическом биосинтезе аминокислот и/или белков. В некоторых вариантах осуществления используют водородокисляющий, и/или карбоксидотрофный, и/или метанотрофный, и/или гетеротрофный микроорганизм, или композицию, или объединение, содержащее эти микроорганизмы, при этом микроорганизм экспрессирует один или более ферментов, которые обеспечивают биосинтез полезных представляющих интерес углеродсодержащих продуктов, включая, но не ограничиваясь ими, химикаты, мономеры, полимеры, белки, полисахариды, витамины, нутрицевтики, антибиотики или фармацевтические продукты или их промежуточные продукты из углеродсодержащего газового сырья, включая, помимо прочего, сингаз или генераторный газ, природный газ или биогаз или CO_2 в комбинации с возобновляемым H_2 или CO или метансодержащие газы. В некоторых вариантах осуществления эти указанные представляющие интерес продукты на основе углерода могут быть биосинтезированы гетеротрофно из органического многоуглеродного сырья, такого как, но не ограничиваясь этим, глюкоза, фруктоза, сахароза и другие сахара. В некоторых неограничивающих вариантах осуществления используют микроорганизм или композицию, содержащую микроорганизм, где микроорганизму требуется менее 4H_2 или NADH для производства одного АТФ посредством дыхания. В других неограничивающих вариантах осуществления используется микроорганизм, который продуцирует более одного АТФ на H_2 или NADH , потребляемые при дыхании. В других неограничивающих вариантах осуществления используется микроорганизм, который продуцирует по меньшей мере два АТФ на каждый H_2 или NADH , потребляемый при дыхании, или по меньшей мере 2,5 АТФ на каждый H_2 или NADH , потребляемый при дыхании.

[230] Дополнительный признак определенных неограничивающих вариантов осуществления касается источника, производства или повторного использования доноров электронов, используемых хемоаутоотрофными микроорганизмами для связывания диоксида углерода и/или другого исходного сырья C1 в органические соединения. Доноры электронов, используемые для улавливания диоксида углерода и фиксации углерода, могут быть получены или переработаны в определенных вариантах осуществления электрохимическим или термохимическим способом с использованием энергии ряда различных возобновляемых источников энергии и/или технологий с низким уровнем выбросов углерода, включая, помимо прочего: фотогальванику, солнечную тепловую энергию, энергию ветра, гидроэнергетику, ядерную энергию, геотермальную энергию, улучшенную геотермальную энергию, тепловую энергию океана, энергию океанских волн, энергию приливов. Многие восстановленные неорганические химические вещества, на которых могут расти хемоаутоотрофы (например, H_2 , CO , H_2S , двухвалентное железо,

аммоний, Mn^{2+}), могут быть легко получены с помощью электрохимических и/или термохимических процессов, хорошо известных в области химической инженерии, которые могут быть запитаны от различных источников энергии без выбросов углекислого газа или с низким уровнем выбросов углерода и/или возобновляемых источников энергии, включая, помимо прочего, фотоэлектрическую энергию, солнечную тепловую энергию, энергию ветра, гидроэлектроэнергию, ядерную энергию, геотермальную энергию, улучшенную геотермальную энергию, термальную энергию океана, энергию океанских волн или энергию приливов.

[231] Производство водорода из возобновляемых источников энергии постепенно заменяет производство из систем ископаемого сырья, и ожидается, что технические достижения в энергетическом секторе снизят цены на производство зеленого водорода в ближайшем будущем. Например, коммерческие и промышленные электролизеры уже достигли эффективности использования электроэнергии до 73%, а исследования новых материалов и конфигураций электролизеров показали, что возможная эффективность достигает 96%. В определенных вариантах осуществления используется коммерчески доступная технология электролиза с эффективностью использования электрической энергии более 70% для получения донора электронов H_2 и/или акцептора электронов O_2 . В определенных вариантах осуществления используются технологии электролиза с энергоэффективностью 73% или выше и/или до 96% или выше.

[232] В определенных вариантах осуществления, в которых используется молекулярный водород в качестве донора электронов, H_2 генерируется методами, хорошо известными в области техники и науки в области химической и технологической инженерии, включая, помимо прочего, одно или более из следующих: путем электролиза воды, включая, помимо прочего, подходы с использованием протонообменных мембран (PEM), жидких электролитов, такие как KOH, щелочного электролиза, электролиза твердых полимерных электролитов, электролиза высокого давления, высокотемпературного электролиза пара (HTES), двухстадийных электрохимико-химических циклов, таких как циклы с использованием электродов оксида никеля и гидроксида никеля, и/или посредством термохимического расщепления воды с помощью методов, включая, помимо прочего, цикл оксида железа, цикл оксид церия (IV) - оксид церия (III), цикл цинк-оксид цинка, цикл сера-йод, цикл медь-хлор, цикл кальций-бром-железо, гибридный цикл серы; и/или электролиза сероводорода; и/или термохимического расщепления сероводорода; и/или других электрохимических или термохимических процессов, которые, как известно, производят водород с низким или нулевым выбросом двуокиси углерода, включая, помимо прочего: улавливание и секвестрацию углерода (CCS), обеспечивающие риформинг метана или

газификацию биомассы. В определенных вариантах осуществления подход к получению H_2 включает, помимо прочего, электролиз с использованием возобновляемой электрической энергии и/или электроэнергии из источника с низким уровнем выбросов парниковых газов. В определенных вариантах осуществления электролиз приводится в действие одним или более из следующих источников: солнечная энергия, включая, помимо прочего, фотогальванику и/или солнечную тепловую энергию; энергию ветра, гидроэнергетику; ядерную; геотермальную; усовершенствованную геотермальную; океаническую термальную энергию; энергию океанских волн; приливную энергию.

[233] Во всем мире существуют огромные ресурсы энергии ветра, из которых используется лишь крошечный процент. Низкое текущее использование в основном связано с прерывистым характером ветровых ресурсов, что приводит к изменению выработки электроэнергии с течением времени и недоиспользованию мощностей для удовлетворения спроса на энергию в большинстве часов. Распространенное несоответствие между поставкой ветровой энергии и спросом на электроэнергию проявляется в примерах из разных стран мира, например, в Шотландии, где ветряным электростанциям платили за отключение турбин из-за переизбытка [<http://www.mnn.com/earth-matters/energy/blogs/blown-away-wind-turbines-generate-enough-energy-to-power-every-home-in>], а также в некоторых частях Техаса, где электричество предоставляется бесплатно в ночное время, когда сила ветра высока и спрос на электроэнергию низкий [http://www.nytimes.com/2015/11/09/business/energy-environment/a-texas-utility-offers-a-nighttime-special-free-electricity.html?_r=2]. Эта проблема может быть решена путем использования энергии ветра, вырабатываемой в непиковые часы потребления, для производства сырья H_2 для процесса в определенных вариантах осуществления настоящего изобретения.

[234] В настоящее время водород все чаще рассматривается как возможная система хранения энергии в так называемом подходе «энергия-газ». Присущая возобновляемым источникам энергии нестабильность (особенно солнечная и ветровая энергия) и избыточная электроэнергия в сети (непиковая энергия) может быть смягчена за счет производства водорода путем электролиза воды. В соответствии с большинством современных схем произведенный газообразный водород может затем снова преобразовываться в электричество с помощью топливных элементов и/или газовых турбин в периоды пикового спроса. Или, альтернативно, H_2 можно подавать в газовую сеть или превращать в метан путем метанирования. Кроме того, водород может быть использован в качестве сырья в химической, нефтехимической, металлургической и пищевой промышленности. Определенные варианты осуществления обеспечивают новые возможности в рамках

концепции преобразования энергии в газ, позволяя использовать H_2 в более широком диапазоне продуктов, включая биохимические вещества и, в частности, белки, аминокислоты, удобрения и биостимуляторы. В определенных вариантах осуществления водород, произведенный с использованием избыточного электричества сети и/или внепиковой энергии, используется в качестве донора электронов для одного или нескольких метаболических путей, происходящих в микроорганизмах, использующих водород. В определенных вариантах осуществления водород и/или кислород, необходимые для микробного биосинтеза водородокисляющими бактериями и/или аэробными бактериями, вырабатываются путем электролиза воды с использованием возобновляемых источников энергии, в частности, электроэнергии вне пиковой нагрузки, т. е. электроэнергии, доступной, когда энергоснабжение превышает спрос, и которая в текущей ситуации часто тратится впустую.

[235] В определенных вариантах осуществления локальное хранение газов H_2 и CO_2 позволяет отводить электроэнергию от сети только в периоды, когда возобновляемая генерация превышает спрос на электроэнергию. В определенных вариантах осуществления энергия может поступать в сеть в обычном режиме в периоды повышенного спроса. В определенных вариантах осуществления этот процесс не нарушает поставку возобновляемой энергии, а скорее способствует более полному использованию возобновляемых генерирующих мощностей, таких как, помимо прочего, ветровая и солнечная энергия. Определенные варианты осуществления позволяют продолжать возобновляемую работу и генерацию даже в периоды, когда выработка электроэнергии превышает потребность в сети (например, непиковая ветровая или солнечная генерация).

[236] В определенных вариантах осуществления доноры электронов водорода не обязательно генерируются с низким или нулевым выбросом диоксида углерода. Однако в определенных таких вариантах осуществления водород получают из устойчивых или низкоценных источников энергии и/или углерода с использованием способов, известных в области химической и технологической инженерии. Такие способы включают, помимо прочего, газификацию, пиролиз, паровой риформинг или аутотермический риформинг сырья, такого как, помимо прочего, одно или более из следующего: сельскохозяйственные материалы, древесина, гидраты метана, солома, морские водоросли и бурые водоросли, и низкоценная высоколигноцеллюлозная биомасса в целом. В определенных вариантах осуществления в качестве донора электронов и/или в качестве источника углерода используется синтез-газ или генераторный газ, содержащий H_2 , и/или CO , и/или CO_2 . В определенных вариантах осуществления H_2 , и/или CO , и/или CO_2 , содержащиеся в сингазе или генераторном газе, дополняются H_2 , полученным с использованием возобновляемого

источника энергии и/или источника энергии с низким уровнем выбросов парниковых газов и процесса преобразования, такого как один или более из описанных в данном документе.

[237] В определенных неограничивающих вариантах осуществления происходит снижение содержания CO₂ и/или синтез клеточного материала, который можно использовать в качестве источника пищи или питания.

В определенных вариантах осуществления соотношение водорода и монооксида углерода в сингазе или генераторном газе можно регулировать с помощью реакции конверсии водяного газа и/или улавливания углерода до того, как газ будет доставлен в микробную культуру. В определенных вариантах осуществления соединения C1 образуются в результате парового риформинга метана или природного газа, и, в частности, выбрасываемого природного газа или природного газа, который в противном случае сжигался бы или выбрасывался в атмосферу, или биогаза, или свалочного газа, и поставлялись в качестве синтез-газа и/или генераторного газа или жидкий поток соединений C1 в культуру микроорганизмов, где в определенных вариантах осуществления соотношение водорода и монооксида углерода в синтез-газе или генераторном газе может быть отрегулировано посредством реакции конверсии водяного газа и/или улавливания углерода до подачи газа, доставляемого в микробную культуру.

[238] Следующие примеры предназначены для иллюстрации, но не ограничения изобретения.

ПРИМЕРЫ

Пример 1. Обработка одноклеточного белка

[239] Клетки микроорганизмов промывают для удаления культуральной среды, оставшейся после биообработки. Клетки лизируют и деактивируют (подтверждают нулевую жизнеспособность), а нуклеиновые кислоты удаляют. Необязательно удаляют клеточные стенки и необязательно гидролизуют белковый изолят, чтобы свести к минимуму риск аллергических реакций.

[240] Показатели по шкале аминокислот с поправкой на усвояемость белка (PDCAAS) и показатель усвояемых незаменимых аминокислот (DIAAS) определяют для оценки питательной ценности.

[241] Оценивают вкус, чтобы убедиться, что изолят имеет нейтральный или не вызывающий отвращения вкус. При необходимости могут быть добавлены соединения или ингредиенты, маскирующие вкус.

[242] Оцениваются функциональные свойства, включая растворимость, эмульгирование, водоудерживающую способность, жирудерживающую способность и гелеобразование.

[243] Оценивают аллергенность, чтобы убедиться, что изолят является гипоаллергенным.

Пример 2. Анализ изолятов микробного белка

[244] Белковые изоляты получали из цельноклеточной биомассы микроорганизмов *Cupriavidus necator*, как описано в примере 1. Получение белковых изолятов обогащало содержание аминокислот и снижало содержание нуклеиновых кислот в биомассе. Были измерены функциональные свойства, которые показали высокое поглощение воды и масла образцами белкового изолята (PI). Образцы PI показали высокое значение PDCAAS, что указывает на превосходную усвояемость и питательную ценность.

[245] % N, % общих аминокислот и % нуклеиновых кислот цельноклеточной биомассы (WCB), выращенной на сахаре, по сравнению с образцами PI показаны в таблице 1.

Таблица 1

Тип образца	N% в сухой массе	% всего AA	% нуклеиновых кислот
WCB	11,87	54,02	13,73
PI № 3	13,46	78,67	5,71
PI № 4	13,91	68,80	6,61
PI № 5a	11,95	66,54	5,65
PI № 5b	12,90	78,65	5,61
PI № 6	13,88	73,03	3,41

[246] Плотность и поглощение воды и масла WCB, выращенной на сахаре, образцов PI, выращенных на сахаре (PI № 1, 2 и 3), и PI, выращенного на газе (PI № 4), по сравнению с изолятом из гороха (гороховый белок Nutrassuma) показаны в таблице 2.

Таблица 2

Тип образца	Насыпная плотность (г/мл)	Поглощенная вода (г/г образца)	Поглощенное масло (г/г образца)
WCB	0,46	2,21	0,89
PI № 1	0,16	3,93	4,6
PI № 2	0,29	2,86	3,2
PI № 3	0,53	3,3	1,61

PI № 4	ND	3,65	1,4
Изолят гороха	ND	2,7	0,94

[247] Усвояемость WCB, выращенной на сахаре, по сравнению с другими источниками белка (данные Miller, et al., *Nutritional factors in SCP*, pp. 79-89, Single Cell Protein, MIT Press, Eds. Mattales and Tannenbaum), показана в таблице 3.

Таблица 3

	WCB	Яйцо	Молоко	Говядина	Пшеница
Всего незаменимых аминокислот (мг/г N)	2692	3215	3200	2720	2089
Ограничивающая аминокислота	His	Отсутствует	Серная AA	Серная AA	Lys
Усвояемость	99%	98%	95%	98%	91%
PDCAAS	.99	1	1	.92	.42

Пример 3. Приготовление пищевых композиций из изолятов микробного белка

[248] Несколько аналогов мяса были приготовлены из цельноклеточной биомассы *Cupriavidus necator* (WCB) или белкового изолята (PI), включая гамбургеры, кусочки жареного мяса и кусочки бекона. PI продемонстрировал высокую способность к поглощению жира. Следовательно, при жарке на сковороде или во фритюре он поглощает масло, что приводит к маслянистому послевкусию. Образцы PI также продемонстрировали высокую водоудерживающую способность. Таким образом, кипячение может предотвратить проблему высокого поглощения жира. Приготовление путем кипячения будет способствовать поглощению воды, а также обеспечит полное приготовление пищевой композиции. Жарка на сковороде после кипячения придает текстуру пищевой композиции и обеспечивает хрустящую корочку. Это может имитировать мясную структуру как снаружи, так и внутри.

[249] Из WCB были приготовлены два бургера общим весом 400 г. Ингредиенты показаны в таблице 4.

Таблица 4

Ингредиент	В1	В2
WCB	30 г	30 г
Грецкие орехи	100 г	60 г
Кешью		40 г
Нут	220 г	220 г
Пшеничная мука	2 ч.л.	
Пшеничный глютен		2 ч.л.

[250] Обычные специи: яблочный уксус (1 ч. л.); чесночный порошок (1/4 ч. л.); луковый порошок (1/4 ч. л.); куркума (1/8 ч. л.); пищевая сода (1/4 ч. л.); паприка (1/4 ч. л.); кленовый сироп (1 ч. л.); масло (2 ч. л.)

[251] В1: Все ингредиенты сначала были измельчены в Nutri bullet, а затем смешаны в кухонном комбайне. Внешний вид был очень гладким. Бургер получился липким по консистенции. Использование 100% грецких орехов сделало бургер темным.

[252] В2: Все ингредиенты были смешаны в кухонном комбайне. Он казался крупнозернистым и имел приятный вид. Был включен живой пшеничный глютен, который, возможно, повлиял на крупнозернистую текстуру. Использование грецкого ореха: кешью в соотношении 60:40 сделало бургер светлым по цвету.

[253] Ингредиенты для красителя: связующее вещество морковного волокна; свекольный порошок и томатный порошок

[254] Бургер общей массой 464 г готовили из РІ. % белка составлял 6,5% по массе (влажный). Ингредиенты показаны в таблице 5.

Таблица 5

Ингредиент	
Живая пшеничная глютеновая мука	75 г
РІ	30 г
Грецкие орехи	100 г
Нут	164 г
Горчичный порошок	1 ч.л.
Паприка	½ ч.л.

Соль	½ ч.л.
Черный перец	½ ч.л.
Чесночный порошок	½ ч.л.
Томатный порошок	1 ч.л.
Оливковое масло	1 ч.л.
Жидкий дым	½ ч.л.
Вода	95 г

[255] Бургер был темного цвета. Изменение цвета произошло после приготовления, что можно объяснить окислением липидов грецкого ореха. Вкус был хороший, послевкусия не было.

[256] Желательные характеристики гамбургеров: для более светлого цвета можно использовать рисовую муку вместо нута, кешью можно использовать вместо грецких орехов и/или можно добавить свекольный сок для придания красноватого цвета. Для менее растрескивающейся текстуры можно добавить яйцо или заменитель яйца. Для дополнительной влаги можно добавить жир, например, оливковое масло или маргарин.

[257] Аналог бекона был приготовлен из ингредиентов, как показано в таблице 6. Рецепт 1 включал 25% WCB в сухом виде (неприготовленная), а рецепт 2 включал 48% WCB в сухом виде и 16% во влажном виде (неприготовленная).

Таблица 6

Ингредиент	Рецепт 1	Рецепт 2
Живая пшеничная глютенная мука	142 г	125 г
WCB	33 г	60 г
Горчичный порошок	2 ч.л.	¼ ч.л.
Паприка	1 ч.л.	1 ч.л.
Соль	½ ч.л.	
Черный перец	1 ½ ч.л.	1 ч.л.
Чесночный порошок	1 ч.л.	½ ч.л.
Кайенский перец	¼ ч.л.	¼ ч.л.
Сахар	¾ ч. л.	
Томатная паста	1/8 чашки	1/8 чашки
Оливковое масло	2 ч.л.	2 ч.л.
Жидкий дым	2 ч.л.	4 капли

[258] Аналог жареного мяса/бекона был приготовлен из ингредиентов, показанных в таблице 7. Общий вес составлял 402 г. % белка составлял 15% влажного и 28,5% сухого.

Таблица 7

Ингредиент	
Живая пшеничная глютеновая мука	125 г
PI	60 г
Горчичный порошок	½ ч.л.
Паприка	½ ч.л.
Соль	½ ч.л.
Черный перец	½ ч.л.
Чесночный порошок	½ ч.л.
Томатный порошок	1 ч.л.
Оливковое масло	1 ч.л.
Жидкий дым	½ ч.л.
Вода	192 г

[259] Белок хорошо интегрировался с пшеничной клейковиной, образуя пластичное тесто. Это тесто можно текстурировать путем раскатывания и повторного раскатывания. Тесто после выпечки или варки напоминало мясо по текстуре. Мясоподобная текстура была более очевидной после варки. На поверхности продукта видны мясоподобные полосы. При дегустации вкус был нейтральным и мягким. Вкус продукта приобретает вкус добавленных вкусоароматических ингредиентов.

[260] Аналог жареного мяса/бекона был приготовлен из ингредиентов, указанных в таблице 8.

Таблица 8

Ингредиент	
Живая пшеничная глютеносодержащая мука	125 г
Вода	192 г
PI	60 г
Горчичный порошок	2 ч.л.
Паприка	1 ч.л.
Соль	½ ч.л.
Черный перец	1 ½ ч.л.
Чесночный порошок	1 ч.л.
Кайенский перец	¼ ч.л.
Сахар	¾ ч. л.
Томатная паста	1/8 чашки
Оливковое масло	2 ч.л.
Жидкий дым	2 ч.л.

Пример 4. Производство белкового концентрата из *Cupriavidus necator*, выращенного на H_2 и CO_2 .

[261] Биомассу *C. necator* DSM 541 выращивали на субстрате H_2 и CO_2 и водной среде с минимальным содержанием солей в 2-литровом реакторе непрерывного действия, оснащённом мешалкой (CSTR). Культуральный бульон непрерывно собирали из CSTR и временно хранили при 4°C. Затем биомассу отделяли от жидкого бульона центрифугированием, надосадочную жидкость сливали, а обезвоженную, но влажную биомассу (содержание твердых веществ приблизительно 20%/ содержание влаги 80%) собирали и хранили при -80°C. Замороженную влажную биомассу позже размораживали и ресуспендировали в воде до содержания твердых веществ 8% с использованием палочки Тиггах и ручного блендера для получения гладкой однородной суспензии. Затем эту суспензию помещали в автоклав. Автоклав нагревали до 110°C и выдерживали при этой температуре 30 минут. После термической обработки автоклавированную суспензию охлаждали на водяной бане, а затем центрифугировали при 13000 g в течение 40 минут. Надосадочную жидкость сливали, отделяли для анализа и собирали влажное твердое вещество, образовавшееся в результате центрифугирования. Затем влажные твердые

вещества, полученные центрифугированием, лиофилизировали и измельчали, получая в результате белковый концентрат тонкого порошка бежевого цвета.

[262] Затем белковый концентрат анализировали. Было определено, что общее содержание аминокислот составляет 80,8% в пересчете на сухую массу с использованием метода АОАС АОАС 994.12. Содержание влаги было определено с использованием метода испытаний NFTA 2.2.2.5 и составило 2,88%. Содержание золы было определено методом испытаний АОАС 942.05 и составило 6,4% в расчете на сухую массу. Общее содержание липидов было определено экстракционным методом Блайя — Дайера (Bligh, E.G. and Dyer W.J. (1959) *Can J Biochem Physiol* 37(8):911-917) и гравиметрическим анализом и составило 9,15% в пересчете на сухую массу. Было измерено содержание витаминов В1 и В2, и они были обнаружены в количестве 1,39 мг витамина В1 и 20,6 мг витамина В2 на 100 граммов сухого веса с использованием методов испытаний АОАС ОМА 942.23 и АОАС ОМА 970.65, соответственно.

[263] Хотя предыдущее изобретение было описано довольно подробно посредством иллюстраций и примеров в целях ясности понимания, специалистам в данной области должно быть очевидно, что некоторые изменения и модификации могут быть реализованы на практике без отклонения от сущности и объема изобретения. Следовательно, описание не следует рассматривать как ограничивающее объем изобретения.

[264] Все публикации, патенты и заявки на патенты, цитируемые в данном документе, настоящим полностью включены в данный документ посредством ссылки для всех целей и в той же степени, как если бы каждая отдельная публикация, патент или заявка на патент были конкретно и отдельно указаны для включения посредством ссылки.

ФОРМУЛА ИЗОБРЕТЕНИЯ

1. Способ получения пищевого продукта, причем указанный способ включает:
 - (а) обработку клеток микроорганизмов, собранных из культуральной среды, с получением белкового продукта, при этом указанный белковый продукт содержит один или более из одноклеточного белка, клеточного лизата, белкового концентрата, белкового изолята, белкового экстракта, белкового гидролизата, свободных аминокислот, пептидов и олигопептидов; и
 - (б) обработку белкового продукта с получением пищевого продукта.
2. Способ по п. 1, в котором пищевой продукт представляет собой продукт-аналог мяса.
3. Способ по п. 2, в котором продукт-аналог мяса включает одну или более физических характеристик и/или функциональных свойств мяса, включая текстуру, вкус, аромат и/или внешний вид.
4. Способ по п. 2, в котором продукт-аналог мяса содержит по меньшей мере около 10% белкового продукта по массе.
5. Способ по п. 2, в котором продукт-аналог мяса содержит соединение гема.
6. Способ по п. 5, в котором соединение гема представляет собой полипептид, содержащий гем.
7. Способ по пп. 5 или 6, в котором соединение гема производится тем же микроорганизмом, из которого получают белковый продукт.
8. Способ по п. 2, в котором гидрогель, липогель и/или эмульсия включены в продукт-аналог мяса в качестве системы высвобождения агента.
9. Способ по п. 8, в котором система высвобождения агента способствует высвобождению красителя, ароматизатора, жирной кислоты, разрыхлителя и/или желирующего агента во время приготовления продукта-аналога мяса.

10. Способ по п. 2, в котором продукт-аналог мяса содержит от около 5% до около 30% липидов по массе, от около 0,5% до около 10% углеводов по массе и/или от около 0,5% до около 5% пищевых волокон по массе.
11. Способ по п. 10, в котором продукт-аналог мяса имеет содержание влаги по меньшей мере около 30% по массе.
12. Способ по п. 1, в котором пищевой продукт представляет собой пищевой продукт, пищевой ингредиент, питательный продукт, корм для животных или корм для домашних животных.
13. Способ по п. 1, в котором пищевой продукт является вегетарианским или веганским пищевым продуктом.
14. Способ по п. 1, в котором пищевой продукт является органическим пищевым продуктом, пищевым продуктом, не содержащим пестицидов, пищевым продуктом, не содержащим гербицидов, пищевым продуктом, не содержащим фунгицидов, пищевым продуктом, не содержащим антибиотиков, или генетически не модифицированным (не содержащим ГМО) пищевым продуктом.
15. Способ по п. 1, в котором пищевой продукт представляет собой пробиотический пищевой продукт или пребиотический пищевой продукт.
16. Способ по п. 1, в котором пищевой продукт не содержит животного белка или жира.
17. Способ по п. 1, в котором пищевой продукт включает молочный продукт, продукт-заменитель молока, хлебобулочное изделие, кондитерское изделие, диетический или протеиновый батончик, протеиновый порошок, спортивный и/или энергетический напиток, протеиновый коктейль или смузи.
18. Способ по п. 1, в котором пищевой продукт содержит один или более источников растительного белка.
19. Способ по п. 18, в котором источник растительного белка включает один или более из гороха, риса, клейкого риса, пшеницы, глютена, сои, конопли, канолы и гречихи.

20. Способ по п. 1, в котором пищевой продукт содержит источник белка из насекомых или водорослей.
21. Способ по п. 1, в котором пищевой продукт представляет собой мясной продукт, и причем белковый продукт включен в мясной продукт в качестве наполнителя для мяса.
22. Способ по п. 21, в котором белковый продукт заменяет по меньшей мере около 10% мяса в мясном продукте.
23. Способ по п. 1, в котором белковый продукт текстурирован для включения в мясо или продукт-аналог мяса.
24. Способ по п. 1, в котором белковый продукт формируют в волокна, термически экструдировать и/или коагулируют в гель.
25. Способ по п. 1, в котором микроорганизм представляет собой хемоаутоτροφный микроорганизм.
26. Способ по п. 25, в котором хемоаутоτροφный микроорганизм представляет собой кислородно-водородный микроорганизм.
27. Способ по п. 26, в котором кислородно-водородный микроорганизм представляет собой микроорганизм *Cupriavidus*.
28. Способ по п. 27, в котором кислородно-водородный микроорганизм включает *Cupriavidus necator* DSM 531 или DSM 541.
29. Способ по п. 1, в котором микроорганизм представляет собой молочнокислый бактериальный микроорганизм.
30. Способ по п. 29, в котором молочнокислая бактерия включает одну или более из бактерий *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Streptococcus* и *Pediococcus*.

31. Способ по пп. 29 или п. 30, в котором молочнокислая бактерия является общепризнанной безопасной (GRAS) бактерией.
32. Способ по п. 1, в котором микроорганизм представляет собой грибковый микроорганизм *Fusarium*, *Rhizopus* или *Aspergillus*.
33. Способ по п. 32, в котором грибковый микроорганизм включает один или более из *Fusarium venenatum*, *Rhizopus oligosporus*, *Rhizopus oryzae*, *Aspergillus oryzae* или *Aspergillus sojae*.
34. Способ по пп. 32 или 33, в котором грибковый микроорганизм представляет собой грибковый микроорганизм GRAS.
35. Способ по п. 1, в котором стадия (а) включает: (i) высвобождение органических молекул из клеток микроорганизмов путем экскреции, секреции или лизиса клеток или их комбинации, при этом органические молекулы содержат белки; и (ii) обработку высвобожденных органических молекул для гидролиза пептидных связей между по меньшей мере частью аминокислот в по меньшей мере части белков с получением таким образом белкового продукта гидролиза, который включает полипептиды, содержащие от 20 до 50 аминокислот, олигопептиды, содержащие от 2 до 20 аминокислот, и/или свободные аминокислоты.
36. Способ по п. 1, в котором стадия (b) включает объединение белкового продукта с другими пищевыми ингредиентами с получением пищевого продукта.
37. Способ по п. 36, в котором другие съедобные ингредиенты включают одно или более из: яблочного сидра, яблочного уксуса, разрыхлителя, пищевой соды, бобов, говядины, свекольного сока, свекольного порошка, черного перца, коричневого сахара, сливочного масла, масла канолы, карамели, морковной клетчатки, моркови, кешью, сыра, курицы, шоколада, цитрусовых, экстракта цитрусовых, кокосового масла, сгущенного молока, молочных продуктов, яйца, заменителя яиц, рыбы, муки, нута, чесночного порошка, меда, жидкого дыма, кленового сиропа, маргарина, глутамата натрия, горчичного порошка, растительного масла, оливкового масла, лукового порошка, паприки, свинины, картофеля, картофельного крахмала, рисовой муки, соли, бензоата натрия, соевого белка, соевого масла, соевого соуса, специй, спирулины, сахара, подсолнечного масла, томатного сока,

томатного порошка, томатного соуса, помидоров, куркумы, ванили, уксуса, витаминов и минералов, грецких орехов, воды, пшеницы, пшеничной муки, пшеничного глютена, ксантановой камеди, дрожжей и дрожжевого экстракта.

38. Пищевой продукт, полученный способом по любому из пп. 1-37.

39. Пищевой продукт, содержащий белковый продукт, полученный из микроорганизмов, при этом указанный белковый продукт содержит один или более из одноклеточного белка, клеточного лизата, белкового концентрата, белкового изолята, белкового экстракта, белкового гидролизата, свободных аминокислот, пептидов и олигопептидов.

40. Пищевой продукт по п. 39, причем пищевой продукт представляет собой продукт-аналог мяса.

41. Пищевой продукт по п. 40, причем продукт-аналог мяса включает одну или более физических характеристик и/или функциональных свойств мяса, включая текстуру, вкус, аромат и/или внешний вид.

42. Пищевой продукт по п. 40, причем продукт-аналог мяса содержит по меньшей мере около 10% белкового продукта по массе.

43. Пищевой продукт по п. 40, причем продукт-аналог мяса содержит соединение гема.

44. Пищевой продукт по п. 43, в котором соединение гема представляет собой полипептид, содержащий гем.

45. Пищевой продукт по п. 43 или п. 44, причем соединение гема продуцируется тем же микроорганизмом, из которого получают белковый продукт.

46. Пищевой продукт по п. 40, причем гидрогель, липогель и/или эмульсия включены в продукт-аналог мяса в качестве системы высвобождения агента.

47. Пищевой продукт по п. 46, причем система высвобождения агента способствует высвобождению красителя, ароматизатора, жирной кислоты, разрыхлителя и/или желирующего агента во время приготовления продукта-аналога мяса.
48. Пищевой продукт по п. 40, причем продукт-аналог мяса содержит от около 5% до около 30% липидов по массе, от около 0,5% до около 10% углеводов по массе и/или от около 0,5% до около 5% пищевых волокон по массе.
49. Пищевой продукт по п. 48, причем продукт-аналог мяса имеет содержание влаги по меньшей мере около 30% по массе.
50. Пищевой продукт по п. 49, причем пищевой продукт представляет собой пищевой продукт, пищевой ингредиент, питательный продукт, корм для животных или корм для домашних животных.
51. Пищевой продукт по п. 39, причем пищевой продукт является вегетарианским или веганским пищевым продуктом.
52. Пищевой продукт по п. 39, причем пищевой продукт является органическим пищевым продуктом, пищевым продуктом, не содержащим пестицидов, пищевым продуктом, не содержащим гербицидов, пищевым продуктом, не содержащим фунгицидов, пищевым продуктом, не содержащим антибиотиков, или генетически не модифицированным (не содержащим ГМО) пищевым продуктом.
53. Пищевой продукт по п. 39, причем пищевой продукт представляет собой пробиотический пищевой продукт или пребиотический пищевой продукт.
54. Пищевой продукт по п. 39, причем пищевой продукт не содержит животного белка или жира.
55. Пищевой продукт по п. 39, причем пищевой продукт включает молочный продукт, продукт-заменитель молока, хлебобулочное изделие, кондитерское изделие, диетический или протеиновый батончик, протеиновый порошок, спортивный и/или энергетический напиток, протеиновый коктейль или смузи.

56. Пищевой продукт по п. 39, причем пищевой продукт содержит один или более источников растительного белка.
57. Пищевой продукт по п. 56, в котором источник растительного белка включает один или более из гороха, риса, клейкого риса, пшеницы, глютена, сои, конопли, канолы и гречихи.
58. Пищевой продукт по п. 39, причем пищевой продукт содержит источник белка из насекомых или водорослей.
59. Пищевой продукт по п. 39, причем пищевой продукт представляет собой мясной продукт, и при этом белковый продукт включен в мясной продукт в качестве наполнителя для мяса.
60. Пищевой продукт по п. 59, причем белковый продукт содержит по меньшей мере около 10% мяса в мясном продукте.
61. Пищевой продукт по п. 39, в котором микроорганизмы включают хемоаутоτροφный микроорганизм.
62. Пищевой продукт по п. 61, в котором хемоаутоτροφный микроорганизм включает кислородно-водородный микроорганизм.
63. Пищевой продукт по п. 62, в котором кислород-водородный микроорганизм включает микроорганизм *Cupriavidus*.
64. Пищевой продукт по п. 63, в котором кислородно-водородный микроорганизм включает *Cupriavidus necator* DSM 531 или DSM 541.
65. Пищевой продукт по п. 39, в котором микроорганизмы включают молочнокислый бактериальный микроорганизм.
66. Пищевой продукт по п. 65, в котором молочнокислая бактерия включает одну или более из бактерий *Lactococcus*, *Lactobacillus*, *Enterococcus*, *Streptococcus* и *Pediococcus*.

67. Пищевой продукт по пп. 65 или 66, в котором молочнокислая бактерия является общепризнанной безопасной (GRAS) бактерией.
68. Пищевой продукт по п. 39, в котором микроорганизм представляет собой грибковый микроорганизм *Fusarium*, *Rhizopus* или *Aspergillus*.
69. Пищевой продукт по п. 68, в котором грибковый микроорганизм включает один или более из *Fusarium venenatum*, *Rhizopus oligosporus*, *Rhizopus oryzae*, *Aspergillus oryzae* или *Aspergillus sojae*.
70. Пищевой продукт по пп. 68 или 69, в котором грибковый микроорганизм представляет собой грибковый микроорганизм GRAS.
71. Пищевой продукт по п. 39, причем пищевой продукт дополнительно содержит один или более из: яблочного сидра, яблочного уксуса, разрыхлителя, пищевой соды, бобов, говядины, свекольного сока, свекольного порошка, черного перца, коричневого сахара, сливочного масла, масла канолы, карамели, морковной клетчатки, моркови, кешью, сыра, курицы, шоколада, цитрусовых, экстракта цитрусовых, кокосового масла, сгущенного молока, молочных продуктов, яйца, заменителя яиц, рыбы, муки, нута, чесночного порошка, меда, жидкого дыма, кленового сиропа, маргарина, глутамата натрия, горчичного порошка, растительного масла, оливкового масла, лукового порошка, паприки, свинины, картофеля, картофельного крахмала, рисовой муки, соли, бензоата натрия, соевого белка, соевого масла, соевого соуса, специй, спиролины, сахара, подсолнечного масла, томатного сока, томатного порошка, томатного соуса, помидоров, куркумы, ванили, уксуса, витаминов и минералов, грецких орехов, воды, пшеницы, пшеничной муки, пшеничного глютена, ксантановой камеди, дрожжей и дрожжевого экстракта.